

DELPHION

51457-2001700-10361


[Log Out](#) [Work Files](#) [Saved Searches](#)
[RESEARCH](#)
[PRODUCTS](#)
[INSIDE DELPHION](#)

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent Help

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Get Now: ☒ PDF | More choices...Tools: Add to Work File | ☐ Create new Work File | View: Jump to: Top Go to: Derwent☐ Email this to a friend

Title: CN1450173A: SARS related coronal virus total genome chip and use thereof

Derwent Title: A total genome gene chip useful for diagnosing coronary virus related to SARS disease [Derwent Record]

Country: CN China

Kind: A Unexamined APPLIC. open to Public Inspection I

Inventor: XIAOYUE WU; China
XIN MA; China
LUFENG REN; China

Assignee: BENYUAN ZHENG YANG GENE TECHNOLOGY CO., LTD. China
News, Profiles, Stocks and More about this company

Published / Filed: 2003-10-22 / 2003-04-25

Application Number: CN2003000122953

IPC Code: C12Q 1/68; C12N 15/11; C12N 7/01; C07H 21/04;

ECLA Code: None

Priority Number: 2003-04-25 CN2003000122953

Abstract:

The present invention relates to a total genome gene chip for diagnosing coronary virus related to SARS disease, and provides a new primer for obtaining high detection rate. Said total genome gene chip includes detection monitoring system (A) and disease diagnosis system, and can accurately and quickly detect the coronary virus related to SARS, and can shorten the diagnosis time. Said invention is special applicable to living body detection of quarantine office, hospital clinical sample, biological environment virus pollution monitoring, controlling propagation of the disease after patient discharge, and establishment of said virus gene bank and tracking



High
Resolution

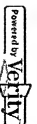
animal source of said SARS coronary virus, and has the important action.

Family:

Pub.	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1450173A	2003-10-22	2003-04-25	SARS related coronal virus total genom chip and use thereof
1 family members shown above				

Other Abstract Info:

DERABS G2004-083768



Nominate this for the Gallery.

THOMSON

Copyright © 1997-2005 The Thomson Corporation
[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#) | [Help](#)

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/68

C12N 15/11 C12N 7/01

C07H 21/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03122953.0

[43] 公开日 2003 年 10 月 22 日

[11] 公开号 CN 1450173A

[22] 申请日 2003.4.25 [21] 申请号 03122953.0

[71] 申请人 本元正阳基因技术股份有限公司

地址 100176 北京市经济技术开发区永昌中
路 6 号

[72] 发明人 吴小岳 马 鑫 任鲁凤 董小岩

权利要求书 1 页 说明书 24 页 附图 1 页

[54] 发明名称 与 SARS 相关的冠状病毒全基因组
芯片及其用途

[57] 摘要

本发明涉及用于急性传染性疾病 SARS 相关冠状病毒诊断的全基因组基因芯片, 并提供了用于诊断其它有经济价值的动物冠状病毒基因芯片的高检出率的新引物。该全基因组基因芯片包括检测监控系统(A)和疾病诊断系统(B)两个系统, 可准确、快速检测 SARS 相关冠状病毒, 并设有检测监控系统, 诊断时间更短, 且大大提高诊断准确性。本发明的 SARS 冠状病毒全基因组芯片尤其适用于检疫局的生物体检测、医院临床样本, 生物环境病毒污染监控、病人出院后疾病的传播及人群中 SARS 冠状病毒基因组水平的微小变化规律及基因多样性数据库的建立, 特别对追踪 SARS 冠状病毒的动物来源都将具有十分深远的重要意义。本发明特别应用于诊断领域。

知识产权出版社出版

ISSN 1008-4274

1. 本发明描述了一种基因芯片，其特征是固定在基片上的探针矩阵覆盖了 SARS 冠状病毒的全基因组序列。
2. 权利要求 1 所述的 SARS 冠状病毒的全基因组序列是指 GenBank 已公布的 SARS 冠状病毒毒株或亚型的全基因组序列。
3. 权利要求 2 中所述的 SARS 冠状病毒毒株或亚型包括 SARS coronavirus TOR2 (GenBank 序列号: NC_004718/AY274119)，SARS coronavirus HKU-39849 (GenBank 序列号: AY278491)，SARS coronavirus CUHK-W1 (GenBank 序列号: AY278554)，SARS coronavirus Urbani (GenBank 序列号: AY278741)，SARS coronavirus BJ01 (GenBank 序列号: AY278488)，SARS coronavirus BJ02 (GenBank 序列号: AY278487)，SARS coronavirus BJ03 (GenBank 序列号: AY278490)，SARS coronavirus BJ04 (GenBank 序列号: AY279354)，SARS coronavirus GZ01 (GenBank 序列号: AY278489)。
4. 权利要求 1 所述的基因芯片上的探针特征是从 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基。
5. 权利要求 1 所述的基因芯片上的探针特征特别是指以 70 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基的模式。
6. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之一是用于检测 SARS 冠状病毒。
7. 权利要求 6 所述的检测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。
8. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之二是用于监测 SARS 冠状病毒的变异和亚型。
9. 权利要求 8 所述的监测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。
10. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之三是用于鉴别 SARS 冠状病毒和其它冠状病毒。
11. 权利要求 10 所述的鉴别对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片及其用途

技术领域 本发明属于生物技术领域，具体涉及与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片及其构建策略、方法及用途。

背景技术 病毒检测用芯片背景。基因芯片，简单地说就是在—块特殊处理过的玻璃片或其它固相支持物（如硅片、聚丙烯膜、硝酸纤维素膜、尼龙膜等）上，将基因探针以大规模阵列的形式排布，形成可与目的分子（如病毒基因组）相互作用的固相表面。分子杂交后的探针阵列因为探针上结合目的分子的不同而在激光的顺序激发下分别呈现不同的荧光发射特征，根据其波长及波幅特征收集信号，作出比较分析从而得到所要的信息。

基因芯片现今的应用主要有以下方面：基因表达时受特征分析；基因差异表达检测；新基因的发现；大规模 DNA 测序；基因型、基因突变和多态性分析；遗传病相关基因的定位；肿瘤相关基因的检测；单一或少量感染性疾病的诊断以及药物研究等。

病毒检测芯片具有以下特点：

1、高通量：每平方厘米上可以结合 5000-10000 个核酸探针，也就是说可以同时平行地进行上万个分子杂交反应。现今基因序列已知的上千种病毒仅通过—张芯片就可以完全容纳。

2、高精度、灵敏度：通过分子杂交来检测病毒的存在是当前应用的技术中精确性和特异性最高的，据报道中表明，应用基因芯片技术进行临床诊断，准确度可达到 98%-100%。

3、组合性：现在开发出的可以检测病毒的基因芯片产品均只能单一性检测一种或少量几种病毒，如此则不能发挥基因芯片最大的技术优势。我们的病毒组合检测芯片将几乎全部已知病毒的检测组合在—张芯片上，最大程度地利用芯片技术的潜力，提高时效性的同时降低成本。病毒的组合检测对于环境监控和质量监督等方面则具有划时代的意义。

4、周期短、低成本、低工作量：通过常规方法对病毒进行分子检测通常至少需要一周时间，且对于多种病毒则需要相同的工作重复进行。病毒组合检测芯片可以在 4-5 小时的自动化过程中一次性检测所有病毒，大大降低工作时耗、强度和试验成本。

SARS 冠状病毒相关背景及 SARS 冠状病毒全基因组芯片的背景技术：

从 2002 年 11 月到现在，世界范围内的急性呼吸窘迫综合症（severe acute respiratory syndrome, SARS）的爆发和流行被证明与一种新型变异的冠状病毒相关，目前国际上将这种病毒叫做 SARS 相关冠状病毒（SARS related virus）或 SARS 病毒（SARS virus），在本发明中我们称之为“与 SARS 相关的冠状病毒”。在中国将这种急性呼吸窘迫综合症也做称非典型性肺炎。3 月 23 日，亚特兰大的美国疾病预防控制中心寄往 UCSF Dr. Deresi 教授的标本经过其对包含 1000 种病毒的芯片测试，首次证实造成这种大规模流行的病因是一种冠状病毒。继之，加拿大 BCBA 基因组科学中心 4 月 13 日首次发布了 SARS 冠状病毒（Genbank 序列号：AY274119）全序列。4 月 15 日 Genbank 加以注释再次发布（Genbank 序列号：NC_004718）。4 月 16 日给猴子单独接种这种从临床确诊病人身上分离的 SARS 冠状病毒，发现在猴子身上引起的症状与 SARS 病人极其相似。WHO 的 SARS 多中心协作研究成员在 WHO 多国协作研究基础上基本确定一种新型冠状病毒是这种急性呼吸道症状 SARS 的病原，衣原体等其它可疑病原仍需进一步评估。

所报道的目前认为是 SARS 的发病原因的冠状病毒，是一种变异程度非常大的冠状病毒。它属于冠状病毒科（来自拉丁语 corona，象皇冠的），是一种 RNA 病毒，病毒体含有单链正链线性 RNA 分子，感染脊椎动物，尤其是温血动物，包括一些哺乳类（比如人、牛、猪和鼠），以及几种禽类（比如火鸡和鸡）。该科病毒基因组由 RNA 组成，具有 29,000 个到 31,000 个碱基。

香港大学最新发现,感染人类的“非典”病毒成员最少有6个。这项发现,可为近日部分患者药物无效、病情反复之谜,提供破解的线索。然而,从卫生防疫角度看,“非典”病毒数目繁多,短期内逐一攻破,会非常困难。港大医学院微生物学系将多个来自世界各地的“非典”病毒样本作比较,竟发现当中6个病毒样本,某一段基因出现不相同的组合,包括两个来自香港本地、两个来自广州、一个来自加拿大和一个来自美国的,就是说6个病毒是家族中不同的成员。不过,目前尚不知哪个样本的病毒是“母体”,研究人员倾向于来自香港的一个样本与来自加拿大和美国的相似;而来自香港的另一个样本,则与广州的两个样本相似。暂时未知这些非典型肺炎病毒家族成员是早已存在,还是由其中一种非典型肺炎病毒变种衍生出来的,而各家族成员之间的关系,以至病症上的异同都尚未清楚。不过,这发现可能有助解答一系列患者感染后出现病情极大差异之谜。

香港大学的研究结果,证实一直以来不少人“非典”病毒不只一种的担忧,是正确的。虽然未知这六个病毒成员之间的关系,但由于成员有六个之多,有关专家由此推断,非典型肺炎的康复者有可能在康复后,再受另一种病毒成员侵袭,身体并没有相应抗体下而受感染,造成重复感染的现象。另一方面,若病毒有6个成员,部分患者体内可能同时有两个以上不同病毒成员,令医护人员更难制订有效的治疗方案,医护人员必须知道病人身上的病毒是哪一个成员,才可以采取最有效的治疗方案,而测试方法亦因此受到限制。这无疑对防治及康复等工作倍添困难。

历史上,标准病毒检测技术依赖于病毒分离和体外病毒培养或者免疫检测。当前SARS冠状病毒的抗体和抗原标准还未建立,并且免疫检测主要依赖于抗体的质量和可获得性,SARS冠状病毒单克隆抗体和ELISA的IgM抗体研究还在进行。SARS标准化细胞株也未建立,SARS冠状病毒体外培养较难,SARS冠状病毒代谢模式和抗体动力学研究仍不清楚,已经开发出的SARS冠状病毒诊断ELISA试剂盒的敏感性及特异性还有待进一步确认。甚至是目前最好的方法的缺陷也变得明显。我们研制的SARS冠状病毒全基因组芯片除了在诊断上具有绝对优势,对基因多样性数据库的建立;人群中SARS冠状病毒全基因组序列变异的监控以及环境中SARS冠状病毒污染的监控有特别重要的意义。目前针对冠状病毒的实验室检测存在着局限性,因此SARS冠状病毒全基因组芯片的应用是十分必须的。下面将就三个方面阐述SARS冠状病毒全基因组芯片的重要意义。

(1) SARS冠状病毒全基因组芯片对于“超级传染源”的早期发现以及愈后病人对环境污染的监控有重要意义。PCR检测具有很好的特异性,但是无法检测出所有分泌冠状病毒的病人,尽早并可可靠地检测出SARS冠状病毒可以帮助医生识别当病人出现发烧和其他可疑症状时是否感染了SARS,同时将其及时隔离并严格实施控制感染的措施。这将大大降低SARS病人将疾病继续传播的危险。

“超级传染源”一词用以描述一名感染SARS的病人将疾病传染给很多人。“超级传染源”的现象出现在疾病暴发的早期,当时对这种现象没有足够的认识和了解,最初人们只知道SARS是一种新型疾病,认为很多患有非典型性肺炎的病人是由其他原因造成的,因此并没有对感染者实施隔离和严格的控制措施。因此疾病暴发的早期没有实行严格的感染控制措施。在缺乏保护措施的情况下,很多医务工作者、病人亲属以及前往医院的探视者都暴露于SARS冠状病毒之下,随后也都发展为SARS病患。有专家指出SARS病人出院后在一段时间内都有可能对环境造成潜在的SARS冠状病毒威胁。

(2) SARS冠状病毒全基因组芯片对于追踪并确定SARS冠状病毒的动物来源有重要意义。已有报道狗的主人中一人因感染“非典”后死亡,家中其他成员也根据防治“非典”的有关措施予以隔离。家人养的这只宠物狗,也在此期间死亡,有关部门还没有确定其是否是因为感染“非典”而死。荷兰Utrecht大学的Peter Rotter研究小组通过对传染性猫腹膜炎病毒(Feline Infectious Peritonitis Virus, FIPV)导入小鼠冠状病毒的一个基因片段,猫

FIPV 就可以感染小鼠细胞了, 这项研究证明冠状病毒能够通过基因组轻易的改变宿主, 进而推断 SARS 冠状病毒可能是现有的动物及人类冠状病毒突变成一种更致命形式造成的。如果另外的证据支持这种动物性感染, 通过对动物身上分离得到的 SARS 冠状病毒进行全基因组芯片分析可以轻易分析证实这种种间传播的分子依据。

(3) SARS 冠状病毒全基因组芯片对于 SARS 冠状病毒基因多样化数据库的建立有重要意义。有报道说从台湾两个人分离到 SARS 冠状病毒其并不出现 SARS 相关临床症状, 对这种分离到的 SARS 冠状病毒进行全基因组芯片分析有助于对 SARS 冠状病毒遗传抗性的认识。当然 SARS 冠状病毒可能存在的天然遗传抗性不是由单一因素决定的, 但是仅仅依靠血清学以及 PCR 的方法不能确定 SARS 冠状病毒相关具体基因的多样性以及可能发生的微小改变, 当 RNA 病毒(比如 HIV 病毒和流行性感冒病毒)在活细胞内迅速增殖(基因组复制和病毒体装配)时, 它们可以在短期较容易地在不同组织中改变其遗传结构。因此, 专家认为研究 SARS 冠状病毒的突变范围对病毒感染的诊断和治疗是非常必要的。SARS 冠状病毒全基因组芯片可以方便快捷地达到这一目的, 对病毒株的变异以及分子流行病学调查有重要意义。

我们设计的 SARS 冠状病毒全基因组芯片主要根据 GenBank 公布的 SARS 相关冠状病毒全基因组序列 (GenBank 序列号: NC_004718) 以及迄今 GenBank 公布的所有 SARS 冠状病毒全基因组序列 (包括 1. SARS 冠状病毒 HKU-39849, GenBank 序列号: AY278491; 2. SARS 冠状病毒 Urbani, GenBank 序列号: AY278741; 3. SARS 冠状病毒 CUKR-W1, GenBank 序列号: AY278554; 以及 GenBank 已公布了部分基因组序列的 SARS 冠状病毒 1. SARS 冠状病毒 BJ04, GenBank 序列号: AY279354; 2. SARS 冠状病毒 BJ03, GenBank 序列号: AY278490; 3. SARS 冠状病毒 GZ01, GenBank 序列号: AY278489; 4. SARS 冠状病毒 BJ01, GenBank 序列号: AY278488; 5. SARS 冠状病毒 BJ02, GenBank 序列号: AY278487; 6. SARS 冠状病毒 Taiwan RNA-directed RNA 多聚酶 (pol) 基因部分编码区, GenBank 序列号: AY268049; 7. SARS 冠状病毒 Vietnam200300592 多聚酶基因部分编码区, GenBank 序列号: AY269391)。它与现在已有的冠状病毒比较结果显示, 其核苷酸水平的相似性极差。其中我国测完 SARS 冠状病毒全基因组序列的五株 SARS 相关冠状病毒分别分离自广州和北京地区的患者及死亡病例中。其中两株分别来源于不同地区死亡病例的尸解肺组织标本; 一株来源于北京尸解肝和淋巴组织混合物; 还有一株则来源于北京患者鼻咽拭子标本。

与加拿大与美国发布的冠状病毒序列的比较显示, 该病毒的变异能力极强, 在很短的几天内有多处碱基突变。包括进这些不同来源的所有标本全基因组序列, 将使我们的芯片覆盖了所有已知的变异并将十分准确地确定标本是否被 SARS 冠状病毒感染, 并有助于了解病毒的突变机制, 及时掌握病毒在各地区的分布情况, 提高检测的准确性。

我们的选择策略是, 从待选基因组序列的 5' 端开始, 以 40-80 个碱基为探针标准长度, 相邻探针重叠 5-30 个碱基, 选出的探针序列完全覆盖了整个基因组序列。与存放小量的 PCR 扩增基因策略不同, 这使我们能够靶向基因的最大独特性区域, 得以在保留敏感性的同时消除交叉污染的问题。而且它不需要昂贵的和费时的酶扩增以及证实上千条 DNA 模板的过程。这对冠状病毒特别重要, 因为其基因组 A/T 含量比较高, 约 60%, 使用较长的合成的寡核苷酸解决了这一问题。

根据同样的选择策略, 我们设计了针对猪传染性胃肠炎病毒 (Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV) 以及禽传染性支气管炎病毒 (Avian infectious bronchitis virus) 的 40-80 碱基对长的病毒最保守序列的特异性寡核苷酸探针, 这样在快速筛查 SARS 冠状病毒的基础上可以进一步排查是否还有其它动物类型冠状病毒的感染。冠状病毒在人以及家畜和实验动物上引起的许多疾病都有重要经济价值, 经常导致动物严重的肠道或者呼吸道感染。猪传染性胃肠炎是由冠状病毒属的猪传染性胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的传染病。病猪和带毒猪是本病的主要传染来源。目前尚无特效的药物可保治疗, 此病发病

率很高,传播快,一旦发病,采取隔离、消毒措施效果不大。禽传染性支气管炎,通常可根据发病情况,解剖所见作出诊断。目前尚无特效药物。

本芯片还包含从烟草花叶病毒全基因组序列以及人基因组中 10000 个已知基因和 7000 多个 EST 片段选出的 40-80 个碱基对长的寡核苷酸的阴性探针,共计有数十个至一百个芯片扫描的阴性对照点。将杂交完毕的芯片置于激光共聚焦芯片扫描仪中进行图像数据的转换,以激光作为激发光源进行扫描,采集各个杂交点荧光信号的位置、荧光强度等信息,运用专业分析软件例如 AMAD (Analysis of Microarray Data 的缩写)对所采集的数据进行数据转换,主要组成分析、各种簇的分析,进而确定样品是否有 SARS 感染。本芯片将仔细选择的病毒序列与随机扩增步骤组合,克服了以往基于 RT-PCR 检测策略的局限,使得检测范围更广,检测结果更为公正。

冠状病毒在人以及家畜和实验动物上引起的许多疾病都有重要经济价值,经常导致动物严重的肠道或者呼吸道感染。

猪传染性胃肠炎是由冠状病毒属的猪传染性胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的传染病。病猪和带毒猪是本病的主要传染来源。目前尚无特效的药物可供治疗,此病发病率很高,传播快,一旦发病,采取隔离、消毒措施效果不大。禽传染性支气管炎,通常可根据发病情况,解剖所见作出诊断。目前尚无特效药物。

我们在国际互联网上查获,国际上只有 Combimatrix 公司宣布在 SARS 病毒全序列发布 48 小时之内研发出了诊断 SARS 相关冠状病毒的芯片。本发明的与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片包括进刚刚测定的全基因组序列信息,并立足于现有的芯片开发及病毒背景资源丰富的优势,将不断完成的其它 SARS 病毒变异序列有效地包括进去。

下面是目前已知的所有冠状病毒分离株:

```

+---Corona_S2 (130)
+---Viruses (130)
+---ssrna positive-strand viruses-no dna stage(130)
+---nideovirales(130)
+---coronaviridae (130)
+---coronavirus transmissible (5)
+---coronavirus enteric (2)
+---coronavirus epidemic (4)
+---coronavirus coronavirus (37)
+---coronavirus sialodacryoadenitis (1)
+---coronavirus gastroenteritis (5)
+---coronavirus hepatitis (9)
+---coronavirus infectious (61)
+---coronavirus hemagglutinating (1)
+---coronavirus respiratory (5)

```

下面是目前已经得到全基因组序列的冠状病毒:

```

•Avian infectious bronchitis virus
. Avian infectious bronchitis virus (strain 6/82)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette CK)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette M42)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette US)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette)

```


- . Avian infectious bronchitis virus (strain D274)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain D3896)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain Gray)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain KB8523)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain M41)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain Portugal/322/82)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/123/82)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/142/86)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/167/84)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/183/66)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/68/84)
- Avian infectious laryngotracheitis virus
- Enteric coronavirus
- Equine coronavirus
- Group 1 species
 - Canine coronavirus
 - Feline coronavirus
 - Human coronavirus (strain 229E)
 - Porcine epidemic diarrhea virus
 - Transmissible gastroenteritis virus
- Group 2 species
 - Bovine coronavirus
 - Human coronavirus (strain OC43)
 - Murine hepatitis virus
 - Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus
 - Rat coronavirus
- Group 3 species
 - Turkey enteric coronavirus
- Human enteric coronavirus 4408

发明内容 本发明中，我们的芯片设计的策略是以 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 为检测对象，设计相应的探针和芯片。我们以 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基，特别是以 70 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基作为首选的选择模式，从而覆盖整个 SARS 冠状病毒的基因组。合成好的探针利用基因芯片点样仪点制于固相载体表面，固相载体可以包括玻璃片、硅片、聚丙烯膜、硝酸纤维素膜、尼龙膜等材料制成的片基。

利用逆转录及聚合酶链反应技术，我们将来自人体的血液及分泌物等临床样品以及相关病毒的标准样品等中提取的总体 RNA 进行逆转录和扩增，在扩增的过程中掺入荧光标记。扩增标记产物与芯片进行杂交反应后，荧光信号通过基因芯片扫描仪扫描分析处理，最终得到全基因组探针的阴阳性结果。经过与标准毒株杂交结果的对比可以得到检测样品的带毒情况。

本发明的技术路线是：探针设计、探针合成、芯片点制、样本处理与标记、芯片杂交、结果分析。

本发明描述了一种基因芯片，其特征是固定在基片上的探针矩阵覆盖了 SARS 冠状病毒的全基因组序列，所描述的 SARS 冠状病毒的全基因组序列是指 GenBank 已公布的 SARS 冠

状病毒毒株或亚型的全基因组序列, 所描述的 SARS 冠状病毒毒株或亚型包括 SARS coronavirus TOR2 (GenBank 序列号: NC_004718/AY274119), SARS coronavirus HKU-39849 (GenBank 序列号: AY278491), SARS coronavirus CUHK-W1 (GenBank 序列号: AY278554), SARS coronavirus Urbani (GenBank 序列号: AY278741), SARS coronavirus BJ01 (GenBank 序列号: AY278488), SARS coronavirus BJ02 (GenBank 序列号: AY278487), SARS coronavirus BJ03 (GenBank 序列号: AY278490), SARS coronavirus BJ04 (GenBank 序列号: AY279354), SARS coronavirus GZ01 (GenBank 序列号: AY278489)。

本发明所描述的基因芯片上的探针特征是从 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列, 相邻探针序列重复 5-30 个碱基, 所描述的基因芯片上的探针特征特别是指以 70 个碱基序列作为一个探针序列, 相邻探针序列重复 25 个碱基的模式。

根据同样的选择策略, 我们还设计了针对猪传染性胃肠炎病毒 (Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV) 以及禽传染性支气管炎病毒 (Avian infectious bronchitis virus) 的 40-100 碱基对长的病毒特异性寡核苷酸探针。这样的设计策略的目的是, 在快速筛查 SARS 冠状病毒的基础上可以进一步排查是否还有其它动物类型冠状病毒的感染。

本发明所描述的基因芯片的用途之一是用于检测 SARS 冠状病毒, 所描述的检测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等, 所描述的基因芯片的用途之二是用于监测 SARS 冠状病毒的变异和亚型, 所描述的监测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

本发明所描述的基因芯片的用途之三是用于鉴别 SARS 冠状病毒和其它冠状病毒, 所描述的鉴别对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

附图说明 说明书附图中图 1 所示为与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片点阵示意图, 点制规则为每条探针重复三个点, 分为 5 个矩阵, 每个矩阵 136 条探针, 每个矩阵包括 38 个阳性坐标点, 形成 25 列×14 行的点阵。每组三联点为一条探针。图中的 A 所示的灰色点为阳性坐标点, B 所示的黑色三联点为检测探针。

具体实施方式 以下实施例对本发明的与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片的制备和用途作了详细说明, 但并不意味着限制本发明的内容。

实施例 1 芯片的制备

探针的选取:

我们选取 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 为检测对象, 设计相应的探针和芯片, TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 基因组全长 29736 碱基, 从 5' 端开始, 以 70 个碱基为探针标准长度, 相邻探针重叠 25 个碱基, 如探针 1 的首尾位置为基因组序列中第 1-70 个碱基, 探针 2 的首尾位置为基因组序列中第 46-115 个碱基, 探针 3 的首尾位置为基因组序列中第 91-160 个碱基, 探针 4 的首尾位置为基因组序列中第 136-205 个碱基, 以此类推, 共得到 660 个探针, 如表 1 所示, 这 660 个探针覆盖了该基因组的全部序列。每条探针的 5' 端进行氨基修饰。

表 1 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组探针序列

序号	序列	起始位点
sars001	CTACCGAGAAAGCCAACTCGATCTCTGTAGATCTGTCTTAACGGAACCTTAAATCTGTG	1

sars002	CTCTAAACGAACCTTTAAATCTGTGTAGCTGTGCTGGCTGCATGCTAGTGCACTACGCAGTATAAA	46
sars003	GCCTAGTGCACCTACGCAGTATAAAACAATAAATTTTACTGTGTTGACAAGAACAGTAACTCGTC	91
sars004	GTTGACAAGAAACGAGTAACCTGTCCTCTTCTGCAGACTGCTACGGTTTCGTCGGTGTGCAGTGGAT	136
sars005	CGGTTTTCGCGGTGTGCAGTGGATCAACAGTAACCTAGTTTTCGCGGGTGTGACCGAAAGGTGAAGA	181
sars006	GTCCGGGTGTGACCGAAAGGTAAAGTGGAGAGCCTTGTCTGGTGTCAACGAGAAAACACACAGTCCAAC	226
sars007	GTCAACGAGAAAACACACAGTCCAACTCAGTTTGCTGTGCTCTCAGGTTAGAGACGTGCTAGTGGTGGCT	271
sars008	GTTAGAGAGGCTGCTAGTGGCTGGCTTCGGGAACTCTGTGGAAGAGGCCCTATCGGAGGCCAGTGAACAC	316
sars009	GCCGTATCGGAGGCAGGTAAACCACTCAAAATGGCACTGTGGTCTAGTAGAGCTGGAAGAGGCTAC	361
sars010	CTAGTAGAGCTGGAAGAGGCGTACTGCCACAGCTTGAACAGCCCTATGTGTTCATTAACGTTCTGTATG	406
sars011	TATGTGTTTCATTAACGTTCTGATGCCCTAAGCAACCAATCAAGGCCAACAGGTCGTTGAGCTGGTGCAG	451
sars012	CACAAGGTGGTGGAGCTGGTGCAGAAATGGAAGGCATTCAATGCGTGTAGCGGTATAACACTGGGAG	496
sars013	GGTCGTAGCGGTATAACACTGGGAGTACTGCTGCAACATGTGGGGGAAACCCCAATTGCATACCGCAATG	541
sars014	GAACCCCAATTGCATACCGCAATGTCTTCTTGGTAAGAACGGTAATAAGGGAGCCGGTGTATAGCT	586
sars015	AATAAGGGAGCCGGTGGTCTATAGCTATGGCATGCTATAAAGTCTTATGACTTAGTGACGAGCTTGCCA	631
sars016	TATGACTTAGGTGACGAGCTTGGCACTGATCCCAATTGAAGATTATGAACAAACTGGAACTAGCATG	676
sars017	GAACAAACTGGAACTAAGCATGGCAGTGGTGCACTCCGTGCACTCGTGAGCTCAATGAGAGTG	721
sars018	CTCACTGTGAGCTCAATGAGGCTGCACTCACTGCTATGTGCAACCAATTTCTGTGGCCAGATGGGT	766
sars019	AACAATTTCTGTGGCCAGATGGGTACCCCTTGTATGTCATCAAGATTTCCTGCAGCCGGGGCAAGT	811
sars020	GATTTCTGACCGCGGGGCAAGTCAATGTGCACCTTTCCGAACTGATTGATCATCGAGTGCAGAGA	856
sars021	CAACTTGATTACATGAGTGAAGAGAGGTGTCTACTGCTGCGTGACCATGAGCATGAATTTGCCCTGGT	901
sars022	GACCATGAGCATGAATTTGCCCTGTTCACTGAGCGCTGATAGAGCTACGAGCAACAGACACCCCTTGC	946
sars023	AGCTACGAGCAACAGACACCCCTTGGAAATTAAGAGTGCCAAAGAAATTGACACTTTCAAGGGGAATGCC	991
sars024	TTTGCACTTTCAAGGGGAATGCCAAAGTTTGTGTTTCTTCACTCAAAGTCAAAGTCAATTCAC	1036
sars025	AACCTCAAAGTCAAAGTCAATCAACACGCTGTGAAAGAAAAGACTGAGGGTTTCAATGGGGGTATAC	1081
sars026	ACTGAGGGTTTCAATGGGGCGTATACGCTCTGTGTACCTGTTGCATCCACAGGAGGTCAACAATATGC	1126
sars027	TCTCCACAGGAGTGAACAATATGCCATCTGTCTACCTTGATGAAATGTAACTATGGGATGAAGTTTCAT	1171
sars028	TGTTATCATTTGGATGAAGTTTATGGGACAGCTGCGACCTTCTGAAAGCCACTTGTGAACATTGTGGCA	1216
sars029	AAAGCCACTTGTGAACATTGTGGCACTGAAATTTAGTTATTGAAGCACTACTACATGTGGTAOCTAC	1261
sars030	GGACCTACTACATGTGGGTACCTACTCAATGCTGTAGTGAAATGCCATGTCTGCCCTGTCAAGACC	1306
sars031	ATGCCATGTCTGCTGCTCAAGACCCAGAGATTGGAOCTGAGCATAGTGTGCAATATCAACAACACT	1351
sars032	AGTGTTCAGGATTAACAACCACTCAACATTTGAACCTGACCTGCGCAAGGAGGTAGGACTAGATGTT	1396
sars033	CGCAAGGGAGGTAGGACTAGATGTTTTCGAGGCTGTGTTTGCTTATGTTGGCTGCTATAATAAGCGTG	1441
sars034	TATGTTGGCTGCTATAATAAGCGTGCCTACTGGTTCCTGTGCTAGTGTGCTGATATTGGCTCAGGCCAT	1486
sars035	AGTGTGATATTGGCTCAGGCCATCTGCACTTACTGGTGCAATGTGGAGACCTTGAATGAGGATCTCC	1531
sars036	GTGGAGACCTTGAATGAGGATCTCCTTGAGATACTGAGTGGTGAAGCTGTTAACATTAACATTGTGGCG	1576
sars037	CGTGTAAACATTAACTATTGTTGGCGATTTTCATTGAAAGAAGGCTGCCATCATTTTGGCATCTTCT	1621
sars038	GTTCGCATCATTTGGCATCTTCTCTGCTTCAACAGTGCCTTTATTGACACTATAAAGAGTCTTGATT	1666
sars039	ATTGACCATATAAGAGTCTTGATTACAAGCTTTCAAAACCAATTGTGAGTCTCGGATACCATATAAG	1711
sars040	GTGAGTCTGCGGTAACATAAAGTTAOCAGGGAAGCCCGTAAAGGTGCTTGGAACTATTGGACAC	1756
sars041	AAAGGTGCTTGGAAACATTGGACAAACAGAGATCAGTTTAAACCACTGTGTGTTTCCCTCAACAGGCTG	1801
sars042	CTGTGTGGTTTTCCTCAGACGGTCTGGTGTATCAGATCAATTTTGGCGGCACACTTGTATGCAGCA	1846
sars043	TTTGCGGCACACTTGTATGCAGCAAAACCACTCAATTCCTGATTGTGCAAGAGCAGCTGTCAACATCTTG	1891
sars044	CAAGAGCAGCTGTCAACATACTTGATGGTATTCTGAAACGATCATACGCTCTGTGCGACCATGTTT	1936
sars045	TTACGCTGTGCGACGCATGTTTATTACTTCAGACCTGCTACCAACAGCTGCTATTATTAGGCATATG	1981

sars046 AACAGTGTCTATTATTGGCATATGTAACCTGGTGTCTGTACACAGACTTCTCAGTGGTGTCTAATC 2026

sars047 CAGACTCTCTCAGTGGTGTCTAATCTTTTGGGCACTACTGTGAAAACTCAGGCTATCTTTGAATGGA 2071

sars048 AAATCAGGCTATCTTTGAATGGATTGAGGCGAACTTAGTCAGGAGTTGAATTTCTCAAGGATGCTT 2116

sars049 GGAGTGTAAATTTCTCAAGGATGCTGGGAGATTCTCAAAATTTCTATTACGGTGTTTTGACATCGTCA 2161

sars050 ATTACAGGTGTTTTTGACATGTCAGGCTCAAAATACAGGTGCTTCAGATAACATCAAGGATTGTGTAA 2206

sars051 TCAGATAACATCAAGGATTGTGTAATGCTTCTATTGATGTGTAACAGGCACTGCAAAATGTCATTG 2251

sars052 AACAGGCACTCGAAATGTGCAATTGAATCAAGTCACTATGCTGGCGCAAGTTCGATCACTCAACTAG 2296

sars053 CCAAGTGTGCACTCACTCACTTAGTGAAAGTCTTCATGCTCAAGCAAGGAGCTTTACCGTCACTGTA 2341

sars054 AGCAAGGACTTTACCGTCAGTGTATCGTGGCAGGAGCAGCTCACTACTATGCTCTTAAGGCAC 2386

sars055 CACTACTCATGCTCTTAAGGCACAAAAGAAAGTAACTTTCTGAAGGTGATTCACATGACACAGTAC 2431

sars056 GAAGGTGATTCACATGACACAGTACTTAOCCTGAGGAGGTGTCTCAAGAAGCGTAACTCGAAGCAC 2476

sars057 CTCGAAGAAGGTGAAGTGAAGCACTCGAGACGCGCTGTATAGCTTCACAAATGAGCTATGCTCGCA 2521

sars058 TTCACAAATGGAGTATCGTCGGCACACCACTGTGTAAATGGCTCATGCTCTAGAGATTAAAGACA 2566

sars059 CTCATGCTCTTATGAGATTAAAGCAAAAGAACTATCGGCAATGCTCTGCTGTTTACTGGCTCAACACA 2611

sars060 TCTCTGGTTTACTGCTCAACACATGTCTTTCGCTTAAAGGGGGTGCACCAATTAAGGTTGAOCT 2656

sars061 GTTGCAACCAATTAAGGTGTAACTTTGGAGAAGTACTGTTGGAGTTCAAAGTTACAAGAAATGTGA 2701

sars062 GAAGTTCAGGTTACAAGAATGTGAGAAATCACTTTGAGCTTGATGAAGCTGTGACAAAGTCTTAAATG 2746

sars063 GAACTGTGTGCAAAAGTCTTAAATGAAGTGTCTGTCTACATGTTGAATCCGATACCGAAGTACTG 2791

sars064 GTTGAATCCGGTACCGAAGTTACTGAGTTTGCATGTTGTTGACGAGGCTGTTGAACTTTTCAAC 2836

sars065 GAGGCTGTGTGAAGACTTTACAACGATTTCTGATCTGCTTACCAACATGGGTATGATCTTGATGAGT 2881

sars066 AACATGGGTATTGATCTTGATGAGTGGAGTGTAGTACAATCTACTATTATTGATGATGCTGGTAGAAAA 2926

sars067 TTATTGATGATGCTGGTAGAAAAAATTTTCAACAGTATGATTGTCTTTTACCCCTOCAGATGAGG 2971

sars068 GTGTCTTTTACCCCTCCAGTAGGGAAGAAGGAGACGATGCAAGTGTGAGGAAGAAGAAATGATGA 3016

sars069 GTGAGGAAGAAGAAATGATGAACCTGTGAACATGAGTACGGTACAGAGGATGATTACAAGGCTCC 3061

sars070 ACAGAGGATGATTACAAGGTCTCCCTGGAATTTGGTGCTCAGCTGAAACAGTTCGAGTGAAGGAAG 3106

sars071 GCTGAACACGTTGAGTGTGAGGAAGAAGAGGAGAACTGGCTGATGATACTACTGAGCAATCAGAGA 3151

sars072 GATGATACTACTGAGCAATCAGAGATTGAGCCAGAACCCAGAACTACACTGAAGAACCGATTAACTAGT 3196

sars073 ACACCTGAAGAACAGTTAATCAGTTTACTGGTATTTAAACTACTGACAATGTTGCCATTAAATGTG 3241

sars074 ACTGACAAATGTCOCTAATTAATGTGTGACATCGTTAAGGAGGCAAAAGTGTCTAATCCTATGGTATTG 3286

sars075 CAAAGTGCTAAATCTATGGTATTGTAATGCTGCTAACATACACCTGAAGAAATGGTGGTGTAGGAC 3331

sars076 CTGAACATGTGGTGGTGTAGCAGGTGCACCTCAACAGGCAACCAATGTCCTGCAAAAGGAGAGTG 3376

sars077 AATGGTCCATGCAAAAGGAGGTGATGATTACATTAAAGCTAAATGGCTCTTACAGTAGGAGGCTCTT 3421

sars078 GGCCCTCTTACAGTAGGAGGCTCTGTTGCTTCTTGACATATCTTGCTAAGAAGTGTCTGCAATGTG 3466

sars079 TTCTGTAGAAGTGTCTGATGTTGTGGACCTAACTAAATGAGGTGAGGACATCCAGCTCTTTAAAG 3511

sars080 GTGAGGACATCCAGCTCTTAAAGGACGATATGAATTTTCACTACAGGACATCTACTTGCACCAT 3556

sars081 TCACAGGACATCTACTTGCACCATTTGTTGTCAGCAGGCATATTGGTGCTAAACCACTTCACTCTTAC 3601

sars082 GGTCGTAAACCACTTCACTCTTACAAGTGGCTGACAGCGTGTGTCACAGGTTTATATTGACAGTCA 3646

sars083 GTGACACAGGTTTATATTGACGTCAATGAACAAAGCTCTTATGACAGGTTGTCATGGATTCTTGATA 3691

sars084 CAGGTTGTCATGGATTATCTTGTAACCTGAAGCTAGAGTGAAGCACTAAACAGAGGAGGCCACCA 3736

sars085 GCACTAAACAGAGGAGGCCAACACACAGAGATTCCAAACTGAGGAGAAATCTGTGTCACAGAGC 3781

sars086 GAGGAGAAATCTGTGTCACAGAGGCTGTGATGTGAAGCCAAATAAGGCTGCATTGATGAGTTA 3826

sars087 ATTAAGGCTGCAATTGATGAGGTTACCAACACACTGGAAGAACTAAGTTTCTACCAATAAGTACTCT 3871

sars088 AAGTTTCTACCAATAAGTACTCTGTTTGTGATATCAATGTAAGCTTTACCATGATTCTCAGAA 3916

sars089 AAGCTTTACCATGATTCTCAGAACTGCTTAGAGGTGAAGATATGCTTCTCTGAGAGGATGCACTT 3961

sars090 TCTTCTCTGAGAGGATGCACCTTACATGGTAGGTGATGTTATCACTAGTGGTATATCACTTGTGTG 4006

sars091 ACTAGTGGTGATATCACTTGTGTGTTGTAATACCCCTCAAAAGGCTGGTGGCACTACTGAGATGCTCTCAA 4051

sars092 GGTGGCACTACTGAGATGCTCTCAAGAGCTTGGAGAAAGTGCCAGTTGATGATATAAACACGTACC 4096

sars093 GTTGATGAGTATATAACCACTACCTCGGACAAGGATGTGCTGTTATACACTGGAGAACTGACAGCTG 4141

sars094 TATACACTTGAGGAAGCTAAGACTGCTCTTAAGAAATGCAAATCGCATTTTATGTACTACCTTCAGAAG 4186

sars095 GCATTTTATGTACTACCTTCAGAAAGCACTAATGCTAAGGAAGAGATTCTAGGAAGTGTATCGTGAATT 4231

sars096 ATTCAGGAAGCTGTATCTCGAATTTGAGAGAAATGCTTGCTCAGTGGAGAGACAAGAAAAATTAATGC 4276

sars097 GCTGAGAGACAGAAAAATTAATGCGTATATGACATGGATGTTAGAGCCAATATGCAACCACTCAACGCTA 4321

sars098 GCCAATATGCCAACCACTCAACGTAAGTATAAAGGAATTAATAATCAAGAGGCACTCGTGACATATGGTG 4366

sars099 CAAGAGGGCATCGTTGACTATGGTGTGCGATTCTCTTTTATAGTAAAGAGCTGTAGCTTCTATTAT 4411

sars100 AGTAAAGAGCTGTAGCTTCTATTATTAACGAAGCTGAACCTCTCTAATAGGCGCTTGTCACAAATGCCAA 4456

sars101 GTAGAAAGCTTGTGCACAAATGGTAATGGTTATGTGACACATGGTTTAACTCTGAAGAGGCTGGCGGCT 4501

sars102 TTTAATCTGAAGAGGCTGGCGCTGTATGGCTTCTCTAAGCTGCTGGCTAGTGTGAGTATCATCAC 4546

sars103 CCGTGGCTAGTGTGACGATATCATCACCAGTCTGTTACTACATATAATGAGTACCTCAGTTCATCA 4591

sars104 AATGATACCTCACTTGTGTCATCAAGACACTCTGAGGAGCACTTTGTAGAAACAGTTTCTTTGGCTGGCT 4636

sars105 GTAGAAACAGTTTCTTTGGCTGGCTCTTACAGAGATTGGTCTATTACGAGCAGCGTACAGAGTTAGGCT 4681

sars106 TCAGGACAGCGTACAGAGTTAGGTGTGAATTTCTTAAGCGTGGTGCACAAAATGTGTACCACTCTGG 4726

sars107 GACAAAAATGTGTACCACTCTGGAGAGCGCGCTGAGTTTCATCTGAAGCGTGAAGTTTCTTTCAGTGT 4771

sars108 CTTGAAGGTGAGGTTCTTCACTTGACAACTAAAGAGTCTCTTAATCCGCGGAGGTTAAGACTATAA 4816

sars109 TCCCTGGGGAGGTTAAGACTATAAAGGTGTTACAACTGTGGACAACTAATCTOCACACACAGCTTG 4861

sars110 AAGCATATCTCCACACACAGCTTGTGGATATGCTATGACATATGGACAGCAGTTTGGTCCAACTACT 4906

sars111 GGACAGCAGTTTGGTCCAACTACTTGGATGGTCTGATGTTACAAAAATTAACCTCATGTAATATCAT 4951

sars112 AAAATTAACCTCATGTAAATCATAGGGTAAGACTTTTCTTGACTACCTAGTGATGACACACTAGTA 4996

sars113 CTACCTAGTATGACACACTAGTAGTGAAGCTTTCGAGTACTACCATACTCTGATGAGAGTTTCTTG 5041

sars114 CATACTCTGTAGAGAGTTTCTTGGTAGGTACATGTCTGCTTAAACCCACAAAAAATGGAATTTTC 5086

sars115 AACCACAAAAAATGGAATTTCTCAAGTTGGTGGTTAACTTCAATTAATGGGCTGATAACAATT 5131

sars116 TCAATTAATGGGCTGATAACAATTGTTATTGCTAGTGTTTTATAGCACTTCAACAGCTTGAAGTCA 5176

sars117 TTAGCACTTCAACAGCTTGAAGTCAAAATCAATGCACCACTTCAAGAGGCTTATTATAGAGCGCGTG 5221

sars118 CAAGAGGCTTATTATAGAGCGCGTCTGGTGATGCTGCTAACTTTTGTGCACTCATATGCTTACAGTA 5266

sars119 TGTGCACTTACTGCTTACAGTAATAAACTGTTGGGAGCTTGGTGATGTGAGAGAACTATGAOCC 5311

sars120 GGTGATGTGACAGAACTATGACCACTCTCTACAGCATGCTAATTTGGAATCTGCAAGGAGTCTCTTA 5356

sars121 TTGGAATCTGAAAGCGAGTTCTTAATGTGCTGTGTAACATGTGTGTCAGAAACTACTACCTTAAGG 5401

sars122 GGTCAAGAACTACTAOCCTTAACGGGTGTAAGAGCTGTGATGTATATGGTACTCTATCTATGATAATC 5446

sars123 ATGGGTACTCTATCTTATGATAAATCTTAAGCAGGTTGTTCCATTCATGTGTGTGGTGGTGAAGTCTA 5491

sars124 CCATGTGTGTGTGGTGTGATGCTACACAATATCTAGTACAAAGAGTCTTCTTTGTTATGATGTCTG 5536

sars125 GAGTCTTCTTTGTTATGATGTCTGCACCACTGCTGAGTATAAATACAGCAAGGTACATCTTATGTG 5581

sars126 TTACAGCAAGGTACATCTTATATGCGGAATGATCACTGGTAACTATCAGTGTGGTCATTACACTCAT 5626

sars127 TATCAGTGTGGTCACTTACACTCATATAACTGCTAAGGAGACCTCTATGCTATTGACGAGGCTCAACCTTA 5671

sars128 TATGCTATTGACGAGCTCACTTACAAAGATGTGAGAGTACAAGGACGAGTACTGATGTTTTCTACA 5716

sars129 GGACAGGAGTCTGATGTTTCTACAAGGAACATCTTACACTACAAACATCAGCGCTGTGCTGATAAAC 5761

sars130 ACCATCAAGCTGTGTGTTATAAATCGATGGAGTTACTTACACAGAGATTGAACAAAAATTTGATGGGT 5806

sars131 GAGATTGACCAAAAAATTTGATGGGTATTATAAAAAGGATAATGCTTACTATACAGAGCAGCTATAGACC 5851

sars132 TACTATACAGAGCGCTATAGACCTGTACCACTCAACCAATACCAAAATGGAGTTTTGATAATTCA 5896

sars133 CCAAAATGGAGTTTTGATAATTCAAACTACAGATTTCTAACAAAAATTTGCTGATGATTAAATCAAA 5941

sars134 AAATTGCTGATGATTTAAATCAATGACAGGCTTCACAAGCCAGCTTCACGAGAGCTATGTCACAT 5986

sars135 GCTTCAGAGAGAGCTATCTGTGACATTCTTCCAGACTTGATGGGATGTAGTGGCTATTGACTATAGAC 6031

sars136 GATGTAGTGCGTATTGACTATAGACACTATTGACGAGGTTCAAGAAGGTGCTAAATTTAGCTGCAATGAC 6076

sars137 AAAGGTGCTAAATTAAGTCTAAGGCAATGTGTTGGCCACTTAACAGGCTACAACCAAGACAACTGCTCA 6121

sars138 CAGGCTACAACCAAGACAAGGTTCAACCAAAACACTTGGTGTTCAGTTGTCTTTGGAGTACAAGCCAG 6166

sars139 CGTTGCTCTTGGAGTACAAGCCAGTAGACTCTCAAATTCATTGAAGTTCTGCGAGTAGAGACACAC 6211

sars140 GAAGTTCTGGCAGTAGAAGACACAGAAGGAATGGACAATCTGCTGTGAAGTCACACCCACCTCTG 6256

sars141 TGTGAAGTCAACAACCCACCTCTGAAGAAGTATGGGAAATCTCACATACAGAAGGAAGTCAATAGAGT 6301

sars142 ACCATACAGAAGGAAGTCAATAGAGTGTGACGTGAAACTACCGAGTTGAGGCAATGTCATACTTAAAC 6346

sars143 GTTGAGGCAATGTCACTATAACCATCAGATGAAGGTGTTAAGTAACAACAGAGTTAGTCAATGAGG 6391

sars144 GTAACACAAGAGTTAGGTCATGAGGATCTTATGGCTGCTTATGTGGAAMACACAAGCAATACCAATTAAGA 6436

sars145 GAAACACAGCATTACCATTAAGAAOCTAATGAGCTTTCACAGCCTTAGGTTTAAAAACAATTGCCA 6481

sars146 GCTTAGGTTTAAAAACAATTGCCACTCATGGTATGCTGCAATTAATAGTGTCTCTGGAGTAAAAATTT 6526

sars147 AATAGTGTTCCTTGGAGTAAAAATTTGGCTTATGTCAAAACCATTTCTAGGACAAGCAGCAATTACAACAT 6571

sars148 TTAGGACAAGCAGCAATTACMACATCAAAATGGCGTAAGAGATTAGCACAAGGTGTGTTAACAATTTATA 6616

sars149 GACCAAGCGTGTGTTTAAACAATTATAGCCTTATGTGTTTACATTTATGTTCAATTTGTACTTTTACTA 6661

sars150 TTGTTCCAAATGTGACTTTTACTAAAAGTACCAATTCATAGAAATGAGCTTCACTACCTACAACCTATTG 6706

sars151 AGAGCTTCACTACCTACAACCTATTGCTAAAAATAGTGTGAAGGTGTGCTAAATTTATGTTGGATGCGC 6751

sars152 GTTGCTAAATATGTTTGGATGCGCGCAATTAATGTGGAAGTCAACCAAAATTTCTAAATTTGTCAACA 6796

sars153 CCAAAATTTCTAAATTTGTTCACAATCGCTATGTGGCTATTGTGTTAAGTATTTGCTTAGGTTCTCTAA 6841

sars154 TTAAGTATTTGCTTAGGTTCTCTAACTGTGTAACTGCTGCTTTGGTGACTCTATCTAAATTTGGTG 6886

sars155 GGTGTACTCTTATCTAAATTTGGTGCTCTCTTATTGTAAGGCGGTAGAGAATTTGATCTTAATCGT 6931

sars156 GTTAGAGAATGTATCTTAATGCTCAAGCTACTACTATGGAATTCGTGAAGGTTCTTTCTCTGCA 6976

sars157 TTCTGTGAAGGTTCTTTTCTTGACGATTGTGTTAAGTGAGTTAGACTCCCTGATTCTTATCCAGCTC 7021

sars158 GACTCCCTGATTCTTATCCAGCTCTTGAAACCAATTCAGGTGAAGATTTCATGTAACAAGCTAGACTTGA 7066

sars159 ATTTCACTGTACAAGCTAGACTTGACAATTTTAGGTCGCGCGTGAGTGGGTTTGGCATAATGTTGT 7111

sars160 GAGTGGGTTTGGCATAATGTTGTTCAAAAATTTCTTTATTTATTAGGTTCTTCAAGCTAATGCGAG 7156

sars161 TTAGGCTCTTCAGCTATAATGACGGTGTCTTTGGCTATTGCTAGTCAATTCATCAGCAATCTTGGC 7201

sars162 AGCTATTTCATCAGCAATTTCTTGGCTCATGTGGTTTATCATAGTATGTACAATGGCAACCGTTTCTG 7246

sars163 TTGTTACAATGGCAACCGTTTCTGCAATGGTAGAGTGATCTTCTTCTTCTTCTACTACATAT 7291

sars164 ATCTTCTCTCTTCTACTACATATGGAAGAAGTATGTGCATATCATGATGGTTGCACCTCTTCGACTT 7336

sars165 ATGATGGTTGCAOCTCTTGCAATTCGATGATGCTATAAGGCAATGCTGOCACAGCGGTGAGTGTAT 7381

sars166 AATGCTGOCACAGCGTTGAGTGTACAACATTTGTAATGGCAAGAAGATCTTTCTATGTCTATGCAA 7426

sars167 AAGAGATGTTCTTATGTCTATGCAAAATGGGCGCTTCAOCTCTACTTTGACAMGGCTGCAAAAAGACTCTCA 7471

sars168 AAGACTACAATTGGAAATTTGCTCAATTTGACACATTTTGCACGTAGTACATTCAATAGTGATGAAG 7516

sars169 GGTAGTACATTCATTAGTGTGAAGTTGCTGCTGATTGTCACCTCAGTTTAAAAAGCAATCAACCTTA 7561

sars170 CAGTTTAAAGACCAATCAACCTTACTGAACAGTCAATGATATTGTTGATAGTGTGCTGTGAAAAATG 7606

sars171 GTTGATAGTTGTGCTGTA AAAAATGGGCGCTTCAOCTCTACTTTGACAMGGCTGCAAAAAGACTCTCA 7651

sars172 GACAAGGCTGGTCAAAGACCTATAGAGACATCCGCTCTCCATTTTGTCAATTTAGACAAATTTGAGAG 7696

sars173 TTGTCAATTTAGACAAATTTGAGAGCTAAACACACTAAAGGTTCACTGCTATTAAATGTATAGTATTTTG 7741

sars174 CTGCTATTAAATGTCAATGTTTGTATGGCAAGTCCAAATGGCAGCTGCTCTTAAGTCTGCTCTCTG 7786

sars175 GAGTCTGCTTCAAGTCTGCTTCTGTGTACTACAGTCAAGTGAATGTCACACCTATCTGTTGCTTGAOC 7831

sars176 TGCCAAOCTATTCTGTTGCTTGACCAAGCTCTGTATCAGAGCTGGAGATAGTACTGAGTTTCCGTTA 7876

sars177 GGAGATAGTACTGAAGTTTCCGTTAAGATGTTTATGCTTATGTGACACCTTTTCAAGCACTTTTATAGT 7921

sars178 GACACCTTTTCAGCAACTTTTAGTGTCCTATGGA AAAACTTAGGCCTGTGCTACAGCTCACAGG 7966

sars179 GCACCTGTGCTACAGCTCACAGCGAGTTAGCAAAAGGCTAGCTTTAGATGGTGCTCTTCTACATCG 8011

sars180 TTAGATGGTGCTCTTCTACATTGCTGCTAGCTGCCGACAAGGTGTGTGATACCGATGTTGACACAA 8056

sars181 GTTGTTGATACCGATGTTGACACAAAGGATGTTATTGAATGCTCAAACTTTACATCACTGACTAG 8101

sars182 AAACCTTCACATCACTCTGACTTAGAAGTGACAGGTGACAGTTGTAACAATTTCACTGCTACCTATAATA 8146

sars183 AACAATTCATGCTCACTATAATAAGTTGAAAACATGACGCCAGAGATCTGGGCAATGTTATGACT 8191

sars184 AGAGATCTTGGCGCATGTATTGACTGTAATGCAAGGCATATCAATGCCAAGTAGCAAAAAGTCACAAG 8236

sars185 GCCCAAGTAGCAAAAAGTCACAATGTTCACTCATGGAATGTAAGACACTACATGCTTTATCTGAAC 8281

sars186 AAGACTACATGCTTTATCTGAACAGCTGGCTAAACAAATTCGTAGTCTGCCAAGAAGAACACATAC 8326

sars187 AGTGCTGCCAAGAAGAACACATACCTTTTAGACTAACTTGTGCTACAACTAGACAGGTTGTCAATGCTCA 8371

sars188 ACAACTAGACAGGTTGCAATGTCATAACTACTAAAACTCACTCAAGGTGGTAAGATTGTAGTACTT 8416

sars189 AAGGGTGGTAAGATTGTTAGTACTGTTTTAAACTTATGCTTAAGGCCACATATTGTGGCTTCTGCTG 8461

sars190 GCCACATTATTGCGGTTCTGCTGCATTGGTTGTTATATGCTTATGCCAGTACATACATTGCAATCC 8506

sars191 ATGCCAGTACATACATTGCAATCCATGATGGTTACACAATGAATCAATTGGTTACAAAAGCCATCTCAGG 8551

sars192 ATCACTGGTTACAAAGCCATTCAAGATGGTGTCACTGGTACATCAATTTCTACTGATGATTGTTTGCAA 8596

sars193 ATTCTCATGATGATTGTTTTCAAATAAACATGCTGGTTTGAACCATGGTTTAGCCAGCGTGGTGGTT 8641

sars194 GCATGGTTTAGCCAGCGTGGTGGTTACACAAAATGACAAAAGTGCCTGTAGTACGTCTCATCAATA 8686

sars195 TGCCCTGTAGTAGCTGCTATCATTAACAAGAGATTGGTTTCATAGTCCCTGGCTACCGGGTCACTGGC 8731

sars196 GTGCTGGCTTACCGGGTACTGTGCTGAGGACATCAATGGTGACTCTTGCAATTTCTACTCGTGTGTT 8776

sars197 TTCTGCAATTTTCACTCGTGTGTTTTTAGTCTGTGGCAACAATTTGCTACACAOCTTCCAACTCATTTG 8821

sars198 TGCTACACAOCTTCCAACTCATTTAGTATAGTGATTGCTACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG 8866

sars199 TCTGCTGGCTTCTGCTGCTGAGTGTACAAATTTTAAAGATGCTATGGCAAACTGTCGCCATATTGTT 8911

sars200 ATGGGCAAACTGTGGCATATTGTTATGACACTAATTTGCTAGAGGTTCTATTCTTATAGTGAGCTTC 8956

sars201 GGTTCATTCTTATAGTGAGCTTCTGTCAGACACTGGTTATGCTCTATGGATGGTTCCATCATACAGT 9001

sars202 CTTATGGATGGTTCCATCATACAGTTTCTAAACACTTACTGCGAGGGTTCTGTTAGAGTAGTACAACATT 9046

sars203 GGTTCGTTAGAGTAGTAACAACATTTTATGCTGAGTACTGTAGACATGTCATCGCAAGGTGAGAA 9091

sars204 CATGTACATCGCAAGGTGAGAGTAGGTATTTGCCATCTAACAGTGGTAGTGGGTTCTTAATAATG 9136

sars205 AGTGTAGATGGGTTCTTAATAAGGACATTACAGAGCTCTATCAGGAGTTTCTGTGCTGTGATGCGA 9181

sars206 GGAGTTTCTGTGGTGTGATGCGATGAATCTCATAGCTAACTCTTTACTCCCTCTGTGCAACCTGTGG 9226

sars207 TTTACTCTCTGTGCAAOCTGTGGTGCTTTAGATGTGTCTGCTCAGTAGTGCTGTGGTGATTAATG 9271

sars208 TCAGTAGTGCTGTGCTATTATTGCCATATTGGTGACTGTGCTGCTACTCTTATGAATTCAGAC 9316

sars209 GCTACTACTTTATGAATTCAGAGGTGTTTTGGTGAGTACAOCCATGTTGTGTGCTGCTAATGACACTT 9361

sars210 CATGTGTGTGCTGTAATGCACTTTTGTGTTTGTATGCTTTCACTATACTCTGTGCTGCTACCGCTTACA 9406

sars211 ATACTCTGTGCTGACAGCTTACAGCTTTCTGCGGGAGTCTACTCACTCTTTACTGTACTTGTGACAT 9451

sars212 TCAGTCTTTTACTGTACTTGACATTCTATTTCACCAATGATGTTTCACTTTGGCTCAOCTTCAATGGT 9496

sars213 TCATTCTGGCTCACTTCAATGGTTTGGCATGTTTCTCCTATTGTGCTTTTGGATACAGCAATCT 9541

sars214 GTGCTTTTTGGATAACAGCAATCTATGATTCTGTATTCTCTGAGCACTGCCATTGGTTCTTTAACA 9586

sars215 AAGCACTGCCATTGGTCTTTAACAACATCTTAGGAAAAGAGTCATGTTAATGGAGTTACATTAGTA 9631

sars216 ATGTTTAATGGAGTTACATTTAGTACCTTCGAGGAGGCTGCTTTGTGACCTTTTGTCTCAACAGGAAA 9676

sars217 TGTACTTTTGTCTCAACAGGAAATGTAACATAATGCTATGCGAGACACTCTTGCCACTTACACAGT 9721

sars218 GAGACACTGTTGCCACTTACAGCATATAACAGGTATCTTGCTCTATATACAAGTACAAGTATTTCAGTG 9766

sars219 TATACAAGTACAAGTATTTCAGTGGAGCTTAGATACTACACAGCTATGCGAAGCACTTGTGCTGCACT 9811

sars220 TATGCTGAAGCAGCTTGTGCTGCACTTAGCAAGGCTCTAAATGACTTTAGCAACTCAGGTGCTGATGTTTC 9856

sars221 TTATGCACTCAGGTGCTGATGTTCTCTACCAACACACAGACATCAATCATTCTCTGCTGTTCTGACAGA 9901

sars222 TCAATCACTTCTGCTGTTCTGCAGAGTGGTTTATAGGAAAATGGCAATCCCGTCAGGCAAGTTGAAGGTT 9946

sars223 TTCCCGTCAGGCAAGTTGAAGGTCATGGTACAAGTAACTGTGGAACTACAACCTTAATGGAATGT 9991

sars224 GGAATCAACAACCTTAATGGAATGTGGTTGGATGACACAGTATACCTCCAAGACATGTCATTGGACAG 10036

sars225 TGTCCAAGACATGTCATTTGCACAGCAAGACATGCTTAATCTAACTATGAAGATCTGCTCATGTGCA 10081

sars226 AACTATAAGATCTGCTCAATTGCAATAOCAACATAGCTTTCTGTTACGGCTGGCAATGTTCAACTTC 10126

sars227 GTTCAGGCTGGCAATGTTCAACTTGCTGTTAATGGCCATTCTATGCCAAATGTGCTGCTTAGGCTAAAG 10171

sars228 CAAAATTTGCTGCTTAGGCTTAAAGTTGATACTTCTAACCCATAGACACCAAGTATAAATTTGTCCGTA 10216

sars229 ACACCAAGTATAAATTTGTCCGATCCCAACCTGGTCAAACTTTTCAGTCTAGCACTCATGAAGTGTT 10261

sars230 TCAGTTCTAGCATGCTACAATGGTTCACCATCTGGTGTATATCAGTGTGCCATGAGACCTAATCATACCA 10306

sars231 GTGCGCATGAGACCTAATCATACCATTAAGGTTCTTCCTTAAATGGATCATGTGGTAGTGTGGTTTTA 10351

sars232 GGATCATGTGGTAGTGTGGTTTTAACATTGATTATGATTCGCTGCTCTTCTGCTATATGCATCATATGG 10396

sars233 TGTGTTCTGATATGTCATCATATGGAGCTTCCAAGAGGATACAGCTGGTACTGACTAGAAAGTAAAT 10441

sars234 GCTGGTACTGACTTAGAAGGTAATTTCTATGGTCCATTGTTGACAGACAACTGCACAGGCTGCAGGTA 10486

sars235 AGACAACCTGCACAGGCTGCAGGTACAGACACAACTAACAATAAATGTTTGGCATGGCTGATGCTG 10531

sars236 AATGTTTGGCATGGCTGTATGCTGCTGTATCAATGGTGATAGGTGGTTCTTAATAGATTCAACCACTA 10576

sars237 TGGTTCTCTTAATAGATTCAACCACTACTTTGATAGCTTTAACTCTGTGGCAATGAAGTACAACATGAA 10621

sars238 GTGGCAATGAAGTACAACATATGAACCTTTGACACAGATCATGTTGACATATGGGACCTCTTCTGCTC 10666

sars239 GACATATTGGGACCTCTTCTGCTCAACAGGAATGGCGCTTAGATATGTGTGCTGCTTGAAGAGC 10711

sars240 GATATGTGCTGCTTTGAAGAGCTGCTGCAGAAATGGTATGAATGGTCTACTACTCTTGTAGCCACTA 10756

sars241 TGGTCTACTACCTTGGTAGCACTATTTGAAGATGAGTTTACACCTATTGATGTTGTAGACAATGCT 10801

sars242 CCAATTGATGTTGTAGACAATGCTCTGGTGTACCTTCCAAGTAAAGTCAAGAAAATGTTAAGGGCA 10846

sars243 AAGTTCAGAAAATTTGTTAAGGGCACTCATTTGGATGCTTTTAACCTTCTTGACATCACTATGATCT 10891

sars244 ACTTTCTTGACATCACTATTGATTCTGTTCAAAAGTACACAGTGGTCACTGTTTTTCTGTTTAGAGA 10936

sars245 TCACTGTTTTCTTTGTTTACGAGAACTCTTCTTGCCATTACTCTTGGTATTATGGCAATGCTGCTAT 10981

sars246 CTTGGTATTATGGCAATGCTGCTATGCTATGCTGCTTGTAAAGTAAAGCAAGCACTTCTGTGCTGT 11026

sars247 CATAGACAGCAATCTTGTGCTTTGTTCTGTTACCTTCTCTGCAACAGTGTGCTTACTTTAATATGGTCT 11071

sars248 ACAGTTGCTTACTTTAATATGGTCTACATGCTGCTAGCTGGGTGATGGTATCATGACATGGCTGGAAT 11116

sars249 ATGCGTATCATGACATGGCTTGAATGGCTGACACTAGCTGTCTGGTTATAGGCTTAAGGATTGTGTTA 11161

sars250 GGTATAGGCTTAAGGATTGTGTTATGTTATGCTTACGCTTTAGTTTGTCTTATCTCATGACAGCTGCCA 11206

sars251 TTGCTATTCTCATGACAGCTGGCACTGTTTATGATGATGCTGCTACAGCTGTTTGGACACTGATGAATG 11251

sars252 AGACGTGTTTGGACACTGATGAATGTGTTACACTGTTTACAAAGTCTACTATGGTAATGCTTTAGATC 11296

sars253 GTCTACTATGGTAATGCTTTAGATCAAGCTATTTCATGCTGGGCTTAGTATTCTGTAACTCTAACT 11341

sars254 TTAGTATTCTGTAACTCTAATCTATCTGGTGTGTTACGACTATCATGTTTGTAGTACAGACTATAG 11386

sars255 ATCATGTTTTAGTACAGACTATAGTGTGTTGCTGTGTAGATTAATGCCATGTTATTTATTACTGCCA 11431

sars256 TAOCGATTGTTATTTACTTGGCAACACTTACAGTGTATCATCTGCTGTTTATGTTGTTCTAGACTATT 11476

sars257 CTGTTTAATGTTTCTTAGGCTATTGTTGCTGCTCTACTTTGGCTTTTCTGTTTACTCAACGGTACT 11521

sars258 TTTCCTGTTTACTCAACGGTACTTCAAGGCTTACTCTTGGTGTATGACTACTTGGTCTCTACACAG 11566

sars259 TATGACTACTTGGTCTCTACACAAGAAATTAGGTATATGAACTCCAGGGGCTTTTGGCTCTAAGAGTA 11611

sars260 CAGGGGCTTTTGGCTCTAAGAGTACTATTGATGCTTCAAGCTTAACATTAAAGTTGTGGGATTGGAG 11656

sars261 AACATTAAATGTTGGTATTGGAGTAAACCATGATCAAGGTTGCTACTGTACAGTCTAAATGTCTG 11701

sars262 GCTACTGTACAGTCTAAATGTCTGACGTAAAGTGCACATCTGTGATGCTGCTGCTGGTCTTCAACAAC 11746

sars263 GTACTGCTCTGGTTCTTCAACAACCTTAGAGTAGTACTCTCTAAATGTGGGCAATGTGTAACAAC 11791

sars264 AAATTTGGGCAAAATGTGTAACAATCCCAATGATATTCTTGGCAAAAGACAACTGAAGCTTTGG 11836

sars265 GCAAAAGACAACTAGAGCTTTGAGAGATGGTTCTCTTTGTGCTGTTTGTCTATCCATGCCAGGGTG 11881

sars266 TCTGTTTTCGTATCCATGCAGGGTGCTGAGACATTAATAGTTGTGCGAGGAATGCTGGATAACCGTG 11926
sars267 TGGCAGGAAATGCTGCATAAACCGTGCTACTCTTCAGGCTATTGCTTCAGAAATTAGTCTTTAACCATCAT 11971
sars268 TCAGAAATTAGTCTTTACCATCATATGCGGCTTATGCCACTGCCAGGAGGCCATGAGCAGCGCTGAT 12016
sars269 CAGGAGGCCATTGAGCAGCGCTGAGCTAATGGTGAATCTGAAAGTGTCTCAAAAAGTTAAAGAAATCTT 12061
sars270 GTTCTCAAAAAGTTAAAGAAATCTTTGAATGTGGCTAAATCTGAGTTTGACCGTGATGCTGCCATGCAAC 12106
sars271 TTGACCGTGATGCTGCCATGCAACGCAAGTTGGAAAAGATGGCAGATCAGGCTATGACCCAAATGTGACA 12151
sars272 GATCAGGCTATGACCCAAATGTACAAACAGGCAAGATCTGAGGACAAGAGGCCAAAAGTAAGTACTGTGTA 12196
sars273 AAGAGGGCCAAAGTAAGTAAGTACTGCTATGCAACAATGCTCTTCACTATGCTTAGGAAGCTTGATAAGTATG 12241
sars274 ATGCTTAGGAAGCTTGATAATGATGCCTTAACAACATTACANCAATGGCGCTGATGGTTGTGTGTCAC 12286
sars275 AATGGCGTGATGGTTGTGTTCCACTCAACATCATACCATTTGACTACAGCAGCCAACTCATGGTTGTGTG 12331
sars276 ACAGCAGCCAAACTCATGGTTGTGTCCTGATTATGGTACTCAAGAACACTTGTGATGTAACACCT 12376
sars277 AAGAACACTTGTGATGGTAACACCTTTACATATGCATCTGCACTCTGGGAAATCCAGCAAGTTGTGATG 12421
sars278 TGGGAAATCCAGCAAGTTGTTGATGCGGATAGCAAGATTGTTCAACTTAGTGAATTAACATGGACAAAT 12466
sars279 CTTTAGTAAATTAACATGGACAAATTCACAAATTTGGCTTGGCGTCTTAATGTTACAGCTCTAAGAGCCA 12511
sars280 CTTATGTTTACAGCTCTAAGAGCCAACTCAGCTGTTAACTACAGAAATGAATGAATGAGTCCAGTATGAC 12556
sars281 AATAATGAACTGAGTCCAGTACGATAGCATACGACAGATGTGCTGTGGCGCTGATACCAACAAACAGCTGT 12601
sars282 GCTGGTACCAACACAAACAGCTTGTACTGATCAATGCACCTTGCTACTATAACAAATGAGGGAGGTA 12646
sars283 TACTATAACAATTCGAAGGAGGTAGGTTGTGCTGCACTTACTATCAGACCAACAGATCTCAAAATGGG 12691
sars284 TCAGACCAACAGATCTCAATGGGCTAGATTCCTCAAGAGTATGGTACAGGTACAATTTACACAGAAC 12736
sars285 GGTACAGGTACAATTTACACAGAACTGGAACACCTTGTAGTTGTTACAGACACACCAAAAGGGGCTA 12781
sars286 GTTACAGACACACAAAAGGGGCTAAAGTGAAATACTGTACTTCATCAAAAGGCTTAACAACCTAAATA 12826
sars287 ATCAAGGGCTTAAACAACCTAAATAGAGGTATGGTGTGGGCGATTAGCTGCTACAGTACGTTCTTACAG 12871
sars288 TTAGTGCTCTAGCTAGCTCTTCAAGGCTGGAAATGCTACAGAAATACCTGCCAATCACTGTGCTTTCT 12916
sars289 CTGCGCAATTCAACTGTGCTTTCTCTGTGCTTTTGCAGTAGAOCCTGCTAAAGCATATAAGGATTACC 12961
sars290 OCTGCTAAAGCATATAAGGATTACCTAGCAAGTGGAGGACAACCAATCAACCACTGTGTGAAGATTGTGT 13006
sars291 ATCAACAACCTGTGTGAAGATGTTGTGTACACACACTGGTACAGGACGGCAATTACTGTAAACACAGAAC 13051
sars292 CAGGCAATTACTGTAAACACAGAAGCTAAATGGACCAAGACTGCTTTGGTGGTCTTCAATGTGTCTGT 13096
sars293 TTTGGTGTGCTTCAATGTTGTCTGATTTGTAGATGCCACATTTGACCATCCAAATGCTAAAGGATTCTGTG 13141
sars294 CATCCAAATCTAAAGGATTCTGTGACTTGAAGGTAAGTACGTCCAAATACCTACCACTTGTGCTAAATG 13186
sars295 CAATATCACTACCCTTGTGCTAATGACCCAGTGGGTTTACACTAGAAACACAGTCTGTACGGTCTGGG 13231
sars296 AGAAACACAGCTGTGACGCTTGGCGAAATGGGAAGGTTATGGCTGTAGTTGTGAACCACTCGCGCAAC 13276
sars297 TGTAGTTGTGAACCACTCGCGAAACCTTGTATGCAGTCTGCGGATGCATCAAGTTTTAAAGGGGTTG 13321
sars298 GCATCAAGTTTTTAAACGGGTTTGGCGGTAAAGTGCAGCGGCTTACACGGTGGCGCACAGGCCTAG 13366
sars299 TTACACCGTGGGACAGGCACTAGTACTGATGTGCTCTACAGGGCTTTTGATATTTACAGCGAAAGT 13411
sars300 CTTTGTGATTTTACAAAGAAAAGTTGCTGGTTTTGCAAAAGTTCATAAACTAATGCTGTGCTGCTTCCA 13456
sars301 TAAAACTAATTTGCTGTGCTTCCAGGAGAGGATGAGGAAGGCAATTTATTAGCTCTTACTTTGTAGT 13501
sars302 ATTTATTAGACTCTTACTTTGTAGTTAAGAGGCACTACTATGCTTAACATACCAACATGAAGAGACTATTTA 13546
sars303 CTACTACCAACATGAAGAGCACTTTATAACTTGGTTAAAGATTGTCCAGCGGTTGCTGTCCATGAGCTTTT 13591
sars304 CAGCGTTGCTGTCCATGACTTTTCAAGTTTAGAGTAGATGGTGACATGTAACCATATATACAGTCA 13636
sars305 ACATGTTACCATATATACAGTCAAGCGCTAACTAAATACACATATGGCTGATTAGTCTATGCTCTACG 13681
sars306 TGGCTGATTAGTCTATGCTCTACGCTAATTTGATGAGGGTAATTGATACATTAAAGAAATACTGCT 13726
sars307 GTGCTATTAAGAAATATGCTGTGCATACAAATGCTGTGATGATGATTATTTCAATAAGAGGATG 13771
sars308 ATGATATTTCATAAGAAAGGATTGGTATGACTTGGTAGAGAACTCGACATCTTACCGGTATATGCTAA 13816
sars309 CTGACATCTTACCGGTATATGCTAAGTTAGTGAGCGTGTAGCGCAATCATTTAAAGACTGTACAAAT 13861

sars310 AATCATATTAAAGACTGTACAATTCTGGATGCTATGCGTGATGCAAGCATTGTAGGCGTACTGACATT 13906

sars311 CAGGCATTGTAGGCGTACTGACATTAGATAATCAGGATCTTAATGGGAACCTGGTACGATTTCGGTGATT 13951

sars312 GGAACGTGTACGATTTCGGTGATTTCGTACAAGTAGCAGGCTGCGGAGTTCCTATTGTGGATTGATA 13996

sars313 CGGGAGTTCCTATTGTGGATTATATTACTATTCGTGATGCCATCTCCTATTGACTAGGGCAATGGC 14041

sars314 TCGTCACATTGTACTAGGGCATTGGCTGCTGAGTCCATATGGATGCTGATTCGCAAAACCATCTATTAA 14086

sars315 CTGATCTCGCAAAACCATCTATTAAAGTGGGATTGCTGAAATGATTTTACGGAAAGAGACCTTTGTCT 14131

sars316 ATTTTACGGAAAGAGACATTGTCTCTCGACGGTATTTTAAATATTGGGACGACATACCATGCCAA 14176

sars317 ATTGGACACAGACATACCATCCCAATTGATTAACTGTTTGGATGATAGGTGTATCTTCACTGCAAA 14221

sars318 ATAGGTGATCTCTTCATTGTGCAAACTTAAATGTGTTATTTCTACTGTGTTCCACTACAAGTTTGG 14266

sars319 CTGTGTTCCACTACAAGTTTGGACCACTAGTANGAAAAATTTGTAGATGGTGTCTCTTTGTGT 14311

sars320 TTGTAGATGGTGTCTCTTTGTGTGTTCAACTGGATACCATTTTGTGAGTTAGGAGTGTACATAATCA 14356

sars321 GTGAGTAGGAGTGTACATAATCAGGATGAACTTACATAGCTGGGCTCAAGTTCAAGGAACTTT 14401

sars322 CGGCTCTAGTTTCAAGGAACCTTTAGTGTATGCTGCTGATGCCACTATGATGCAAGTCTTGGCAATT 14446

sars323 CTATGATGCGAGCTCTGGCAATTATATGCTAGATAAAGCACTACATGCTTTTCAGTAGCTGCATAC 14491

sars324 CATGCTTTCAGTAGTGCCTAACAAACAATGTGCTTTCAAACTGTCAAAACCGGTAATTTAATA 14536

sars325 CTGCAAAACCGGTAATTTAATAAAGACTTTATGACCTTGTGCTAAAGGTTCCTTAAGGAAGG 14581

sars326 TGCTAAAGGTTCTTTAAGGAAGGAAGTCTGTGTGAACAAACACTCTCTCTTGTCTCAGGATGGCA 14626

sars327 ACTTCTCTTGTCTCAGGATGGCAACGCTGCTATGAGTATATGACTATTATCGTATAAATGCGCAAC 14671

sars328 ACTATTATGTTATAATCTGCCAACATGTGTATAGACAACTCTCTATTCTGATGGAAGTGTGGA 14716

sars329 TCGATTATGAGTTGAAGTTGTGATAAATCTTTGATGTTACGATGGTGGCTGTATTAATGCCAACCA 14761

sars330 ATGGTGGCTGATTAATGCGCAACCAAGTAATCGTTAACAATCTGGATAAATCAGCTGGTTGCCATTAA 14806

sars331 ATAAATCAGCGTGGTTGCCATTATAAATGGGGTAAGCGTAGCTTTATATTGACTCAATGAGTTATGA 14851

sars332 TTTATTATGACTCAATGAGTTATGAGGATCAAGATGCATTTTGGGATACTAAGGTAATGCTATCC 14896

sars333 CGTATACTAAGCGTAATGTATCCCTACTATAAATCAATGAATCTTAAGTATGCCATTAGTGCAAGAA 14941

sars334 TTAGTATGGCAATTAGTGCAAGAAATAGAGCTGGCAACCTAGCTGGTGTCTCTATCTGATGACTATGAC 14986

sars335 GTCTCTATCTGTAGTACTATGACAAATAGACAGTTTCATCAGAAATTATGAAGTCAATAGCGGCCAC 15031

sars336 AATTATTGAAGTCAATAGCGGCCACTAGAGGAGCTACTGTGGTAATTGCAACGAAGTTTACGGTGG 15076

sars337 TTGGCAACGAAGGTTTACGGTGGCTGGCATAATATGTTAAAACTGTTACAGTGATGTAGAACTCC 15121

sars338 CTGTTTACAGTGATGTAGAACTCCACACTTATGGGTTGGGATTATCCAAAATGTGACAGACCATGCC 15166

sars339 ATCCAAAATGTGACAGACCATGCTTAACATGCTTAGGATAATGGCGCTCTCTGTTCTGCTGCCAACA 15211

sars340 CTTCTCTTGTGCTGCGCAAAACATACACTGCTGTAATCTATCACACCGTTTCTACAGGTATGCTAA 15256

sars341 CACACCGTTTCTACAGGTTAGCTAACGAGTGTGCCAAGTATTAAAGTGAATGGCTATGTGTGGCGGCTC 15301

sars342 GTGAGATGGTCACTGTGTGGCGGCTCACTATATGTTAAACGAGTGGACATCATCGGCTGATGCTAACAC 15346

sars343 GAACATCATCGGTGATGCTACAACTGCTTATGCTAATAGTGTCTTTAACTTTGTCAAGCTGTACAGC 15391

sars344 TTAACTTTGTCAAGCTGTACAGCAATGTAAATGCACTTCTTCAAGTGATGTAATGAATAGTACTGA 15436

sars345 CAACTAGTGTAATAAGATAGCTGACAAGTATGTCGCACTTCAACACAGGCTCTATGATGTCTCTA 15481

sars346 AACACAGGCTCTATGAGTGTCTCTATAGAAATAGGGATGTGATCATGAATTCGTGATGAGTTTATGCG 15526

sars347 ATGAATTTCTGGATGAGTTTAACTGCTAAGCTGCTAAACATTTCTCATGATGATTTCTTCTGATGATGC 15571

sars348 CCAATGATGATCTTCTGATGATGCGGTGTGTGCTATAACAGTAACTATCGGCTCAAGGTTTAGTAGC 15616

sars349 ACTATCGGGCTCAAGGTTTAGTAGCTAGCATTAAAGCACTTAAAGCAAGTCTTTATTATCAAAATAATGT 15661

sars350 CAGTCTTTATTATCAAAATAATGTGTTCTATGCTGAGGCAAAATGTGGACTGAGACTGACCTTACTAA 15706

sars351 GTTGGACTGAGACTGACCTTACTAAAGGACCTCAAGAAATTTGCTCACAGCATACAATGCTAGTTAAACA 15751

sars352 CACAGCATACAATGCTAGTTAAACAAGGAGATGATAGGTACCTGCCATACCGAGTCCATCAAGAAT 15796

sars353 TGCTTACCCAGATCCATCAAGAATATTAGGCGCAGGCTGTTTGTGATGATATTGTCAAAACAGATGG 15841

sars354 TCGATGATATGTCAAAACAGATGGTACACTTATGATTGAAGGTTCGTCTACTGGCTATTGATGCTTA 15886

sars355 TCGTGTCACTGGCTATTGATGCTTACCCACTTACAAAACATCCTAATCAGGAGTATGCTGATGCTTTCA 15931

sars356 ATCAGGAGTATGCTGATGCTTTTCACTTGATTTACAATACATAGAAAGTTACATGATGAGCTTACTGG 15976

sars357 GAAAGTTACATGATGAGCTTACTGGCCACATGTTGGACATGTAATCCGTAACTAATGATACAC 16021

sars358 CCGTAATGCTAACTAATGATAACACCTCACGGTACTGGGAACCTGAGTTTATGAGGCTATGTACACACC 16066

sars359 AGTTTATGAGGCTATGTACACACCACTACAGCTCTGCAGGCTGATAGTGCTTGTGTATTGTGCAATTC 16111

sars360 TAGGTCTGTGTATTGTGCAATTCAAGACTTCACTTCGTTGGGTGCTGTATTAGGAGCACTTCT 16156

sars361 TGCGGTGATTAGGAGCACTTCTTATGTTGCAAGTCTGCTATGACCATGTCAATTCAACATCACACAA 16201

sars362 ACCATGTCATTTCAACATCACACAAATTAGTGTGTCTGTTAATCCCTATGTTGCAATGCCCAAGTTG 16246

sars363 CCTATGTTGCAATGCCCAAGTTGTGATGTCACTGATGTGACACAACCTGATCTAGGAGGTATGAGCTA 16291

sars364 AACTGTATCTAGGAGGTATGAGCTATTATGCAAGTCACATAAGCTCCCATAGTTTCCATTATGTGC 16336

sars365 CTCCATTAGTTTCCATTATGTGCTAATGGTCAGGTTTGGTTTATACAAAACACATGTGTAGGCAG 16381

sars366 TATACAAAACACATGTGTAGGCAGTACAATGTCACTGACTTCATGCGATAGCAACATGTGATTGGAC 16426

sars367 ATGGCATAGCACATGTGATTGGACTAATGCTGGCGATTACATCTGCCAACACTTGTACTGAGAGACT 16471

sars368 TTGCGAACACTGTACTGAGAGACTCAAGCTTTTCGACGAGAAAGCTCAAAGCCACTGAGGAACACTT 16516

sars369 CGCTCAAAGCCACTGAGGAACATTAAAGCTGTCATATGGTATTGCCACTGTAAGCGAAGTACTCTCTGA 16561

sars370 CCATCTTACGGGAAGTACTCTCTGACAGAGAATTGCATCTTTCATGGGAGGTTGGAAACCTAGACCAC 16606

sars371 GGGAGGTTGGAAACCTAGACCACATTGAACGAACACTATGCTTTACTGGTTACCGTGAACTAAAA 16651

sars372 TTAAGCTTACCGTGTAACATAAAATAGTAAGTACAGATTGGAGATACACCTTTGAAAAGGTGACTA 16696

sars373 AGTACACCTTTGAAAAGGTGACTATGGTGATGCTGTTGTGTACGAGGTACTACGACATACAGTTGAA 16741

sars374 GAGGTACTAGACACATAAAGTTGAATGTTGGTGATTACTTTGTGTGACATCTCACACTGTAATGCCACT 16786

sars375 TGACATCTCACACTGTAATGCCACTTATGTCACCTACTCTAGTGCCACAGGACACTATGTGAGAATTAC 16831

sars376 CACAGAGGACTATGTGAGAATTACTGGCTTGTACCCACACTCAACATCTCAGATGAGTTTCTTAGCAA 16876

sars377 ACATCTCAGATGAGTTTCTAGCAATGTGCAAAATTACAAAGTGGCAGTACGAAAAGTACTCTACACT 16921

sars378 TCGGCATGCAAAAGTACTCTCACTCCAGGACACCTGGTACTGGTAAGAGTCATTTTGGCATGGGACT 16966

sars379 CTAGAGCTGATTTGGCATGGGACTTGTCTCTATTACCATCTGCTGCTATGTAAGTACAGGACTGCTC 17011

sars380 TTGCGATAGTGTATACGGCATGCTCTCACTGACGCTGTTGATGCCATGTGGAAGGCAATAAATATTT 17056

sars381 TATGTGAAAGGCAATAAATATTGGCCATAGATAAATGTAGTAGAATCACTACCTGGGCGTGGCGCGT 17101

sars382 GAATCATACCTGGCGGTGGCGGCTAGAGTGTGTTGATAAATCAAAGTGAATTCAACACTAGCAACAGTA 17146

sars383 AAGTAGAATCAACACTAGAACAGTATGTTTTCGCACTGTAATGCAATGGCCAGAAACCACTGGTACAT 17191

sars384 CATTGCCAGAAACCACTGCTGACATTGTAGTCTTTGATGMAATCTCTATGGCTACTAATTATGACTTGAG 17236

sars385 CTATGGCTACTAATTATGACTTGAGTGTGTCAATGCTAGACTTGGTCAAAACACTACGCTATATTGG 17281

sars386 GTGCAAAACACTACGCTATATTTGGGATCTCTGCTCAATTACCAAGCCCGGCACATGCTGACTAAGG 17326

sars387 CCCCOCGCACATGCTGCTACTAAAGGCACACTAGAACCAAGTAATTTAATTCAGTGTGCAGACTTATGAA 17371

sars388 TTAATTCAGTGTGCAGACTTATGAAAACATAGGTCAGACATGTTCTTTGGAAGTTCGCGGTTGTCC 17416

sars389 TCCTTGGAACTTGTGCGCGTTGTCTGCTGAATTTGTGACACTGTGAGTGCTTATGTTTATGACAAATA 17461

sars390 TGAGTGCTTTAGTTTATGACAATAAGCTAAAGGCACACAAGGATAAGTCAGCTCAATGCTTCAAAATGTT 17506

sars391 AGTCAGCTCAATGCTTCAAAATGTTCTCAAAAGGTTATTAACACATGATGTTTCACTGCAATCAACAG 17551

sars392 ATGATGTTTCATCTGCATCAACAGACCTCAATAGGCGTGTGAAGAAATTTCTACAGCAATCTCTGC 17596

sars393 GAGAATTTCTTACAGCAATCTGCTTGGAGAAAGCTGTTTATCTCACCTTATAATTACAGAAAGCC 17641

sars394 TCTCACTTATAATTCACAGAACGCTGTAGCTTCAAAATCTTAGGATTGCTACGCAAGCTGTTGATTC 17686

sars395 GATTGCTACGCAAGCTTGTGATTCAACAGGGTCTGAAATGACTATGACTATTCATATTCACACAACTAC 17731

sars396 ACTATGTCATATTACACAACTACTGAACAGCAGCACTCTGTGAATGTCAACCGCTCAATGTGGCTAT 17776

sars397 ATGTCAACCGCTCAATGTGGCTATCACAAAGGCAAAAATGGCAATTTGTGCAATAATGTCTGATAGAGA 17821

sars398 TTTTGTGCAATATGCTGATAGAGATCTTTATGACAAATGCAATTTACAAGCTAGAAAATACCAGCTGG 17866

sars399 TTACAAGCTAGAAAATACCAGTGGCAATGTGGCTACATTACAAGCAGAAAATGTAATCTGGACTTTTAA 17911

sars400 CAGAAAATGTAACTGGACTTTTAAAGCACTGTAAGATCATTTACTGGTCTTCACTCTACACAGGCACC 17956

sars401 CTGGCTTCTATCCTACACAGGCACCTACACACTCAGGTTGATATAAAGTTCAAGACTGAAGGATTTAG 18001

sars402 TAAAGTTCAGACTGAAGGATTATGTGTTGACATAOCCAGGCATACCAAGGACATGAACCTACCTAGACT 18046

sars403 CAAAGGACATGACCTACCGTAGACTCATCTCTATGATGGTTTCAAAATGAATACCAAGTCAATGGTTA 18091

sars404 AAATGAATTACCAAGTCAATGGTTACCTAATATGTTTATCACCCGGAAGAAGCTATTGTCACGTTGG 18136

sars405 GCGAAGAAAGCTATTGCTCAGCTTGGTGGCTGGATTGGCTTATGATGAGAGGGCTGTCTGCAACTAGAGA 18181

sars406 TAGAGGGCTGTCACTGAACTAGAGATGCTGGGTACTAAGTACCTCCAGCTAGGATTTTCTACAGG 18226

sars407 CTCCAGCTAGGATTTTCTACAGGTGTTAACTTAGTAGCTGTACGAGCTGGTTATGTTGACACTGAAA 18271

sars408 CGACTGGTATGTTGACACTGAAAAATACACAGAAATCCAGAGTTAATGCAAAACCTCCACAGCTGA 18316

sars409 TTAATGAAAACCTCCACAGGTGACCAAGTTAAACATCTTATACCATCTATGATAAAGGCTTGCCCTG 18361

sars410 CACTCATGATAAAGGCTTGGCCTGGAATGTAGTGGCTATTAAAGATAGTACAAAGTCTCAGTGATACAT 18406

sars411 TAGTACAAATGCTCAGTGATACACTGAAAGGATTGTCAGACAGAGCTGGTTGCTGCTTTGGGGCATGG 18451

sars412 TCGTGTGCTGCTTTGGGGCGCATGGCTTTAGCTTACATCAATGAAGTACTTTGTCAGATTGCACTGA 18496

sars413 AGTACTTTGTCAAGATTGGACCTGAAGAAAGCTGTGTCTGTGTCAGAAAAGTGCACACTGCTTTCTAC 18541

sars414 ACAAGAGTGCAACTTGTCTTTCTACTTCATCAGATACTATGCTGCTGGAACTATTCTGTGGGTTTGA 18586

sars415 GCTGGAATCATTTCTGGGGTTTGGACTATGCTATAAOCCATTATGATTGATGTTGACAGCTGGGGCT 18631

sars416 TTGATTGATGTCAGCAGTGGGGCTTTACGGGTAOCTTCAGAGTAACCATGACCAACTATGCCAGGTACA 18676

sars417 ACCATGACCAACATTGCCAGGTACATGGAATGCACATGTGGCTAGTTGTGATGCTATCATGACTAGATG 18721

sars418 GTTGTGATGCTATCATGACTAGATGTTTAGCAGTCCATGAGTGCTTTGTAAGCGGCTTGATTTGGTCTGT 18766

sars419 TTGTTAAGCGGTTGATTGGTCTGTGTAATACCTATTATAGGAGATGAATGAGGGTTAATCTGCTGT 18811

sars420 ATGAATCTCAGGGTTAATTTCTGCTGCGAGAAAGTACAACATGTTGTGAAGTCTGCATTTGCTGCTGA 18856

sars421 TTGTGAAGCTGCTATGCTGCTGATAGTTTCCAGTTCTTCATGACATTGGAAATCCAAAGGCTATCAA 18901

sars422 ACATTGGAAATCCAAAGGCTATACAGTGTGTGCTCAGGCTGAAGTAGAATGGAAGTTCTACGATGCTCA 18946

sars423 TAGAATGGAGTTCTACGATGCTCAGCCATGTAGTGAACAAGCTTACAAAATAGAGGAACCTCTTCTATTC 18991

sars424 ACAAAATAGAGGAACCTCTTCTATTCTATGCTACACATACGATAAATTCACGTAGTGGTTTGTGTTGTT 19036

sars425 AATTCACATGATGGTGTGTTGTTGTTGGAAATGTAACTGTGATGTTACCCAGCCAAATGCAATTTGTGTG 19081

sars426 GTTACCCAGCCAAATGCAATTTGTGTAGGTTTGCACAAAGCTTGTCTGCAAACTTGAATTTACAGGCTG 19126

sars427 TGTCAAACTTGAACCTTACCAGGCTGTGATGGGTAGTTTGTATGTGAATAAGCATGCATTTCCACACTCC 19171

sars428 TGAATAAGCATGCAATTCACACTCCAGCTTTGATAAAGTGCAATTTACTAATTTAAAGCAATTTGCTTT 19216

sars429 TTACTAATTTAAAGCAATTTGCTTTCTTTACTATTCTGTAGTGTGAGTCTCATGGCAACAGAT 19261

sars430 CTTGTGACTCTCATGGCAACAGATGTGCGGATATGTAATATGTTCCACTCAAACTGTCTACGTGAT 19306

sars431 TCCACTCAAACTGCTACGTGTTATACAGGATGCAATTTAGGTGGTGTGTTTGACAGACCACTGCAAA 19351

sars432 GTGCTGTTGACAGACCAATGCAAAATGAGTACCGACAGTACTGGATGCATATAATATGATGATTTCTGC 19396

sars433 ATGCAATATAATATGATGATTTCTGCTGGATTAGCCTATGGAATTACAAACAATTTGATACTTTATAAECT 19441

sars434 ACAACAATTTGATACTTATAAECTGTGGAATACATTTACAGGTTACAGAGTTAGAAAATGTGGCTTA 19486

sars435 TCAGAGGTTTAGAAAATGTGGCTTATAATGTGTTAATAAAGGACACTTTGATGGAACAGCCGCGGAAGC 19531

sars436 ACTTTGTAGGACACGCCGCGGAAGCACTGTTTCCATCATTAATAATGCTGTTTACACAAGGTAGATGG 19576

sars437 ATGCTGTTTACACAAGGTAGATGGTATTGATGTGGAGATCTTGGAAAATAGACACCACTTCTCTGTAA 19621

sars438 AAAATAGACAACACTTCTGTTAATGTTGCAATTTGAGCTTTGGGCTAAGCGTAACATTAACCACTGCC 19666

sars439 CTAAAGCTTAACTATAAACACAGTGCAGAGATTAGATACTCAATAATTTGGGTGTTGATATGCTGCTAA 19711

sars440 ATTTGGGTGTTGATATCGCTCTAATACTGTAACTGGAAGTACAAAAGAGAGGCCCGACCATGTATC 19756

sars441 AAAGAGAAGGCCAGCATGTATCTACAAATAGGTGCTGCACAATGACTGACATTTGCCAAGAAACCTAC 19801

sars442	TGACTGACATTTGGCAAGAAACCTACTGAGAGTGCTGTCTCTCCACTACTGCTCTGTTTGATGCTAGAT	19846
sars443	TTACTGTCTCTTTGTTGATGTAGAGTGGGAAGCAGGTAGACCTTTTAGAAAGACGGCTAATGGTGTGTTT	19891
sars444	ATAGTAAGCGCGGCTAATGGTGTGTTTAAACAGAGTCTGAGTCAAGAGCTTAAACCTCTCAACAGGAGAC	19936
sars445	AACTGCTTAACACTTAACTAAAGGGACAGCAGCAAGCTAGGCTCAATGGAGTCACATTAATTTGGAGATTAAGT	19981
sars446	GAGTCACATTAATTTGGAGATACTGATAAAACACAGCTTAACTACTTTTAAAGAAATGACAGCGATTAATCA	20026
sars447	TTTAAAGATGACAGCCGCTTAACTCAACAGTGTGCTGAACCTACTTTTAAAGACGACAGAGATTAGGGA	20071
sars448	TTTACAGTCAGCAGACAGCTTAGAGGATTTTAGGCGCAGACACAAATGGAACAGCTGTTCTTGAGCTGCG	20116
sars449	TGGAAGTCACTTTCTTGAGCTGCGCTATGGATGAATTCATACAGGATATAAGCTCGAGGCGCTATGCTT	20161
sars450	GATATAAGCTCGAGGGGTAGCTTGGCAACACATGTTTATGAGAAATTCAGCTACGGACATGCAATTTGGCG	20206
sars451	ATGTCACATGTGCAACCTTGGCGGCTTCATTTTAATGATAGCTTTAGCCCAAGCGCTCAAGAATTCAC	20251
sars452	TAGCCAGCGCTCAACAATGTACCAACTTAATGAGGATTAATGCTATGGACAGCAGTGAAGAAA	20296
sars453	TCCTCTATGGACAGCAGTGAAGAAATTACTTCAATACAGATGGCGCAACAGGTTCATCAAAATGTGTGTG	20341
sars454	AAACAGCTTCATCAAAATGTGTGTGTGTGTGATTTGATCTTTTACTTGTAGACTTGTGCGATATAATA	20386
sars455	TTGTAGACTTTGTGCGATATAAAGTGCACAGATTTGTGCTGATTTCAAAAGTGTGCAAGTTTCAAT	20431
sars456	TTTCAAAGTGTGCAAGGTAACTAAGTGAATCTAGTGAATTTTCACTGCTTTGGTGTAAAGATGGACA	20476
sars457	TCACTGCTTTGGTGTAGGATGAGACTGTGAAACCTCTAACCMAAACTACAMCAAGTGGAGGCTGGCA	20521
sars458	AACTACAGCAAGTGTGAGGCTGGCAACCGGCTTGTGGATGCTCAATCTGTACAGATGCAAAAGATGCT	20566
sars459	ACTTGTCAAGAGTCAACAAAGTATCTTGAAGAGTCTGCAAGTATTCAGGATAGCAAGTCTGCTGTAT	20611
sars460	AGAAATTTGGTGAATAATGCTGTTATACCAAAAGGAATATGATGAATGTGCAAGATATCTCACTGTG	20656
sars461	ATGTGGCAAGTATACTCACTGCTTCATATCTTAATACACTATCTTAGCTGTACCTCTACACATAG	20701
sars462	CTTCTAGTCAAGCTACACATGAGAGTATTAATCTTGGCTGTGGCTGCTCAAAAGGATGTGACACGAG	20746
sars463	CTTGATGTAAAGAGTGTGACACGAGTACGCTGTGCTGACCAAGTGTGCTGCAAGGCTGACACTACTGT	20791
sars464	GCTTGCCAACTGGCACTACTTGTGATTCAGATCTTAATGACTTGCTGTCCGAGCGCATATTTCTACTTT	20836
sars465	TGCTGTGCGAAGCATATTTCACTTTAATTTGGAAGCTGTGCAACAGTACATAGCGGTATAAATATGGACCT	20881
sars466	TACATCGGCTATAATTTGAAGCTCTTATTAATGAGATATGTATAGACCTAGGACCAAAATGTGCAAA	20926
sars467	ACCTAGGACCAAACTGTGCAAAAGAGAGGACGTCAACAGAGGGGTTTTCACATTTGTGTGGATT	20971
sars468	GGTTTTCACITTAATCTGTGTGATTTATAAGCGAAMAACAGCCCTGGGTGTTCTATAGCTGTAAAGAT	21016
sars469	TGGGCTGTCTATAGCTGTATAGGACATAACAGAGCTTCTTGGAATGCTGAGCTTTACAGACTTATGGCGA	21061
sars470	CTGACCTTTACAGCTTATATGGAACCTTTCTCATGGTGTGCAAGTTTGTATCAAAATGAATAGTCATATC	21106
sars471	TTGTTACAAATGTAAATGCATCATCATCGGAAGCATTTTAAATGGGGCTAACTATCTTGCGAAGCGAA	21151
sars472	GGGCTACACTATCTTGGCAAGCGAAGCAAAATTTGATGCTATACCATGCATGCTAACTACATTTTCTG	21196
sars473	CCATGCACTGCTAACTACATTTCTTGAGGAAGCAAAATCTACGAGTTCTTCTCTTACTCTATTTG	21241
sars474	AGTGTGTTCTCTTACTCTTTCAGATAGCAAAATTCCTCATTAATTAAGACAGAACTGCTGTAAATCT	21286
sars475	AATTAAGAGAACTGCTGAATGTCTCTTAAGAGAAATCAATCAATGATATGATTTATTTCTCTGTGGA	21331
sars476	ATGATATGATTTATTTCTCTTGGAAAGAGTAGGCTATCATATAGAAAGAAACAGAGCTTGTGGTTTC	21376
sars477	GAGAAAGAACAGAGTGTGGTTGCTGAGAGTATTTCTGTGTAAACMAATCAAGCAAGTTTATTTTCT	21421
sars478	ACTTAAGCAAGATGTTTATTTCTTAAATTTTCTTCTACTCTCATAGTGTGTGACCTTGACCGTGAC	21466
sars479	GTGGTAGTGAAGCTTGACGGGTGCACCACTTTGTATGATGTTCAAGCTGCTAATTAACACTCAACTACTTC	21511
sars480	CTCTCAATTAACATCAACATGCTTCACTCATATGAGGAGGCTTACTTCTGATGAATTTTATAGATCA	21556
sars481	ATCTGTATGAATTTTATAGTACAGCACTTTATTTAAGTACAGATTTTATTTCTGCTATTTATCTTA	21601
sars482	ATTTATTTCTGCAATTTTATTTCAATTTGTACAGGGTTTCATACIATTAATCAATAGCTTTGGCAACCTGT	21646
sars483	TTAATCATAGTGTGGCAACCCCTGTCATACCTTTTAAAGATGGTATTTTGTCTGACAGAGAAATC	21691
sars484	TTTATTTTCTGCGACAGAGAAATCAAAATGTTGCTGGCTGGGTTTGTGCTTACCATGAACAAACA	21736
sars485	TTTGGGTCTACCATGACCAACAGACAGTGGGTGATTTATTAACAAATCTCACTAAGTTGTGAT	21781

sars486 TTAACAACTTCTACTAATGTTGTTATACGAGCATGTAACCTTTGAATTCGTGTGACAAOCTTCTTCTGCTG 21826
 sars487 TGTGTGCAACOCCTTCTTTCTGCTGTTCTTAACCCATGGGTACACAGACACTACTATGATATTCGATAA 21871
 sars488 AGACACATACTATGATATTCGATAATGCAATTAATTCGACTTTGGAGTACATATCTGATGCCCTTTTCGCT 21916
 sars489 AGTACATATCTGATGCCCTTTTCGCTGTATGTTTCGAAAAAGTCAGGTAATTTTAAACACTTACGAGAGTT 21961
 sars490 GTAATTTAAACACTTACGAGAGTTTGTGTTAAAAATAAGATGGCTTCTCTATGTGTTATAAGGCGTA 22006
 sars491 GGTTCCTCTATGTTATAAAGGCTCAATCAOCTATAGATGTATGCTGATCTACCTTCTGCTTTTAAAC 22051
 sars492 GTGATCAOCTCTGGTTTAAACACTTTGAACCTATTTTAAATGGCTCTGTGATTAACATACAAA 22096
 sars493 TGCCCTCTGGTATAAACATACAAATTTTAGAGCAATCTTCACAGCCTTTTCAOCTGCTCAAGACATTTG 22141
 sars494 CCTTTTCAOCTGCTCAAGACATTTGGGGCAGTCAGCTGCAGCCTATTTTGTGGCTATTTAAAGCCAC 22186
 sars495 ATTTTGTGGCTATTTAAAGCCAACTACATTTATGCTCAAGTATGATGAAATGGTACAATCAGAGATGC 22231
 sars496 ATGAAATGGTACAATCAGAGATGCTGTTGATGTTCTCAAAATCCACTTCTGGAACCTCAATGCTCTGT 22276
 sars497 CACTTGCAGAACTCAATGCTCTGTTAAGAGCTTTGAGATTGCAAGGAATTTTACGAGCCTCAATTTT 22321
 sars498 AAGGAATTACGAGACCTCTAATTTCAAGGTTGTTCCCTCAGGAGATGTTGTGAGATTCCATAATATTAC 22366
 sars499 ATGTGTGAGATTCCATAATATTACAACCTGTGCTCTTTGAGAGGTTTATAAGTCACTAAATTCOC 22411
 sars500 AGGTTTAAATGCTACTAAATTCOCTTCTGTCTATGATGGGAGAGAAAAAATTTCTAATGTGTGCTG 22456
 sars501 GAAAAAATTTCTAATTTGTGTGCTGATTACTGTGCTCTACAACCTCAACATTTTTCACOCCTTTAA 22501
 sars502 ACTCAACATTTTTCACOCCTTAAAGTGTATGGGCTTTTCTGCCACTAAGTTGAATGATCTTGTCTCTC 22546
 sars503 CTAAGTTGAATGATCTTTGCTCTCCAAATGCTATGCAAGATCTTTTGTAGTCAAGGAGATGATGTAG 22591
 sars504 TTGTGATCAAGGAGATGATGTAGACAAATAGCGCCAGGACAACTGGTGTATTGTGATTATAATTA 22636
 sars505 CTGGTGTATTGCTGATTATAATTATAAATGCCAGATGATTTCAATGGGTTGTGCTCTGCTGGAATAC 22681
 sars506 TGGGTTGTGCTCTGCTTGGAACTACTAGGAACATTTGATGCTACTTCACTGGTAATTAATATAAATA 22726
 sars507 CAATGCTAATTAATATAAATAAGGTATCTTAGACATGGCAAGCTTAGGOCCTTTGAGAGAGACAT 22771
 sars508 AGCTTAGGOCCTTTGAGAGAGACATATCTAATGTGCTCTTCCOCTGATGGCAACOCCTTGCACCCOAC 22816
 sars509 CTGATGGCAACOCCTTGCACCCOACCTGCTCTAATGTGTTATGGCCATTAATGATTAATGGTTTTACAC 22861
 sars510 CATTAATGATTATGTTTTTCAOCCACTACTGGCATTTGGCTACCAOCCCTACAGAGTTGATGATCTTCT 22906
 sars511 AACCTTACAGAGTTGTAGTACTTTCTTTTGAACCTTTAAATGCAOCCGCAOCCGTTTGTGCAACAAAT 22951
 sars512 CGGCCAGGTTTGTGGACCAAAATATCCACTGACCTTATTAAAGACAGGTGTCAAATTTAATTTTAA 22996
 sars513 ACCAGTGTGTCAAATTTAATTTAATGGACTCACTGTACTGGTGTTAATCCTCTCTTCAAAGAGATT 23041
 sars514 TGTTAATCCTCTCTCAAAGAGATTCAACCAATTTCAACAAATTTGGCCGTGATGTTCTGTATTCAGTA 23086
 sars515 GCGGTGATGTTCTGATTTCACTGATTCGTTGAGATGCTTAAACATCTGAAATATAGACATTTCAOC 23131
 sars516 CATCTGAAATATTAGACATTTCAOCTTGCCTTTTGGGGGTGTAAGTGAATTAACOCCTGGAACAAATGC 23176
 sars517 GTGTAATTAACACTGGAAACAATGCTTCACTGAAGTTGCTGTCTATATCAAGATGTTAATCTGCACGA 23221
 sars518 TATATCAAGATGTTAACTGCAGTGTGTTTCTACAGCAATTCAGCAGATCAACTCACCAGCTTGGCG 23266
 sars519 CAGATCAACCTCACCAGCTTGGCGATATTTCTACTGGAACAAATGATATTCAGACTCAAGCAGGCTG 23311
 sars520 ATGTATTCCAGACTCAAGCAGGCTGCTTATAGGAGCTGAGCATGTGACACTCTTATGATGGGACAT 23356
 sars521 TGCACTACTCTTATGATGGGACATTCCTATGGAGCTGGCATTTGTCTAGTACCATACAGTTCTTCT 23401
 sars522 GTGCTAGTTACCATACAGTTCTTTATACGTAGTACTAGCCAAAATCTATTGTGGCTTATACTATGTC 23446
 sars523 AATCTATTGTGGCTTATACTATGCTCTTTAGGTGCTGATGTTCAATTGCTTACTCTAATAACACCAATGC 23491
 sars524 TTGCTTACTCTAATAACACCAATGCTATACTACTAACCTTTTCAATTAGCAATTAACAGAAATATGCC 23536
 sars525 TTAGCAATTAACAGAAATATGCCGTGTTCTATGGCTAAAACCTCCGATAGATTGAATATGATACATCTG 23581
 sars526 CCGTAGATTGTAATATGTACATCTGGGAGATTCCTACTGAATGTGCTAATTTGCTTCCCAATATGGTAG 23626
 sars527 CTAAATTTGCTTCCCAATATGCTAGCTTTTGACACAACTAAATGCTGCACTCTCAGGATTTGCTGCTGA 23671
 sars528 GTGCACTCTAGGATTTGCTGCTGAACAGGATGCAACACACCTGAAGTGTGGCTCAAGTCAACAAAT 23716
 sars529 AAGTGTAGGCTCAAGTCAACAAATGTACAAACCCCAACTTTGAAATATTTTGGTGGTTTAAATTTTTC 23761

sars530 AATATTTTGGTGGTTTAAATTTTCACAATATTACCTGACCCCTAAAGCCAACCTAAGAGGCTCTTTAT 23806

sars531 TAAAGCCAACTAAGAGGCTCTTTATTTGAGGACTTGCTCTTAAATAGGTGACACTGGCTGATGCTGGCTT 23851

sars532 AGGTGACACTGGCTGATGCTGGCTTCAATGAAGCAATATGGCGAATGGCTAGGTGATATTAATGCTAGAGA 23896

sars533 GCTTAGGTGATATTAAATGCTAGAGATCTCATTTGTGGCGAAGATTCATAGCACTTGCACTTACAGTGTGGCAAC 23941

sars534 TCAATTGGACTTACAGTGTGGCACTCTGCTCACTGATGATGATGATGCTGCTACCTGCTGCTCTAGT 23986

sars535 TTGCTGCTACACTGCTGCTCTAGTTAGTGGTACTGCCACTGCTGGATGGCAATTTGGTGTGGCGCTGC 24031

sars536 GATGGCAATTTGGTGTGGCGCTGCTCTTCMAATACCTTTTGCTATGCCAATGGCATATAGGTTCMAATGG 24076

sars537 TGCAAATGGCATATAGGTTCAATGGCAATGGAGTTACCCAAATGTTCTCTATGAGAACCAAAACAAAT 24121

sars538 TTCTCTATGAGAACCAAAACAAATGCCAACCAATTTAACAGGCGATTAGTCAAAATCAAGAACTCACT 24166

sars539 CGATTAGTCAAAATTCAGAACTCACTTACAAACACATCAACTGCACTGGGCAAGCTGCAAGACGTTGTTAA 24211

sars540 TGGCGAAGCTGCAAGACGTTGTTAAACAGAAATGCTCAAGCAATTAAACACACTTGTAAACAACTTAGCTC 24256

sars541 ACACACTTGTAAACAACTAGCTCTAATTTGGTGCAATTTCAAGTGTGCTAAATGATATCTCTTTCGG 24301

sars542 GTGTGCTAAATGATATCTTTGGGCACTTGATAAAGTGGAGGAGGTACAAATGACAGGTTAATTAC 24346

sars543 AGGTACAAATTTGACGGTTAATTACAGGAGACTTCAAGGCTTCAAACTTGTAAACAAACAACTAAT 24391

sars544 GAATGCTATGTACAAACAACTAATCAGGGCTGCTGAAATCAGGGCTTGTCTAATCTTGCTGCTACTAA 24436

sars545 CTCTGCTAATCTTGCTGCTACTAAATGCTGAGTGTGTTCTGGCAATCAAAAGAGTTGACTTTTG 24481

sars546 GACAACTCAAAAGAGTTGACTTTTGTGGAAGGGCTACCACTTATGCTCTTCCCAACGACGCCCCGA 24526

sars547 TGCTCTTCCCAACGACGCCCGCATGGTGTGCTTCTCTACATGTCAGTATGTGCCATCCAGCGGAG 24571

sars548 TCAAGTATGTGCCATCCAGGAGAGGAACCTTCCACAGCGGCACAAATTGTCATGAAGGCAAAACGATA 24616

sars549 CAATTTGTCATGAAGGCAAGCATACTTCCCTCGTGAAGGTGTTTTGTGTTAATGGCACTTCTGGTT 24661

sars550 TTGTGTTAATGGCACTTCTTGTTTATTACACAGAGGAACCTTTTCTCCCAAAATTAATTACTACAGA 24706

sars551 TTCTCCCAAAATTAATTAACAGCAATACATTTGCTCAGGAATTTGATGCTGTTATTTGGCATCAT 24751

sars552 ATTGTGATGTGTTATTTGGCATCAATTAACAAACAGCTTTATGATCTCTGCACTGAGCTTGACTCAAT 24796

sars553 CTCTGCCAAGCTGAGCTTGACATTTCAAGAAAGAGCTGGACAGTACTTCAAAAATCATACATCAACAGA 24841

sars554 ACTTCAAAAATCATACATACAGGATGTTGATCTTGGCGACATTTACAGGCAATTAAGCTTCTGTGCTCAA 24886

sars555 CAGGCATTAAAGCTTCTGTGCTCAACATTTCAAAAGAAATTTAGCGGCTCAATGAGGTGGCTAAAATTT 24931

sars556 GCTCAATGAGGTGGCTAAAAATTTAAATGAATCACTATTGACCTTCAAGAAATTTGGGAAATATGAGCA 24976

sars557 TTCAAGAAATTTGGGAAATATGAGCAATATTAATGAGGCTTGGTATGTTGGCTGGGCTTCAATGCTGG 25021

sars558 ATGTTTGGCTGGCTTCAATGCTGCACTAATGGCATGGTCAATGTTTACAATCTTGGCTTGTGTCATGAC 25066

sars559 TTAACATCTGCTTGTGTTGCAATGATGTTGCTGCACTTGGCTCAAGGGTGCATGCTCTTGTGCTTGTG 25111

sars560 AGGGTGCATGCTCTTGTGTTGCTGCAAGTTTGAAGGATGACTTGCAGGCACTTCTCAAGGGTGT 25156

sars561 ACTCTGAGCAGTTCTCAAGGGTGTCAAATTACATTAACACATAAGCACTTATGATTTGTTATGAGA 25201

sars562 CGAATTAAGGATTTGTTATGAGATTTTACTCTTGGATCAATTACTGCAGCAGCAAAAAATTGAC 25246

sars563 TACTGCAGGCAAGCAAAAAATTGCAATGCTCTCTGCAAGTACTGTTCACTGCAGCAAGCAATACCG 25291

sars564 TGTCTACTGTACAGCAAGATACCGCTACAGGCTCACTCCCTTCGGATGGCTTGTATTTGGGCTTGCA 25336

sars565 CGGATGGCTTGTATTTGGGCTTGCAATTTCTGCTGTTTTCAGAGGCTACCAAAATTAATGGGCTCAAT 25381

sars566 GCGTACCAAAATTAATGGGCTCAATAAAGATGGCAGCTAGCCCTTTATAGGGCTTCCAGTTCAATTTGG 25426

sars567 TTATAGGGCTTCCAGTTCAATTTGCAATTTACTGCTGATTTGTTACATCTAATTCACATCTTTTGGCT 25471

sars568 TACCATCTATTCACATCTTTTGGCTGCTGAGGTATGGAGGCGCAATTTTGTACCTCTATGCTTGT 25516

sars569 GCAATTTTGTACCTCTATGCTTGTATATTTTCTACAAATGCTCAACGATGAGAAATATTATGAGA 25561

sars570 CAAGCATGTGAATTAATGAGATTTGGCTTTGTTGAAGTGCAAAATCAAGAACCCATTACTTTAT 25606

sars571 CAAATCCAGAAACCAATTACTTTATGATGCCAATCTTTTGTGCTGGCAGACACATAACTATGACTAC 25651

sars572 CTGGCAGACACATAACTATGACTACTGTATACCATATACAGCTGTACAGATACAAATTTGGTGTACTGAA 25696

sars573 CACAGATCAATTTGTCTTACTGAGGTGACGGCATTTCAACAGCAAACTCAAGAGAGCTACCAAAAT 25741

sars574 AAAAECTCAAGAAGACTACCAAAATGGTGTTATTCTGAGGATAGGCACTCAGGTGTTAAAGACTATGTC 25786

sars575 GCACCTCAGGTGTTAAAGACTATGTGCTTGATCATGGCTATTTACCGAAGTTTACTACAGCTTGAGTCT 25831

sars576 CGAAGTTTACTACAGCTTGAGTCTACACAAATTACTACAGACACTGGTATTGAAATGCTACATTCTTC 25876

sars577 TGGTATTGAAAATGCTACATTCTTCATCTTTTACAAGCTTGTTAAMGACCAACCGAATGTGCAAAATACAC 25921

sars578 AGAACCACCGAATGTGCAAAATACACAAATCGAAGGCTCTTCAGGAGTTGCTAATCCAGCAATGGATCCA 25966

sars579 AGTTGCTAATCCAGCAATGGATCCAAATTTATGATGAGCGGACGACACTACTAGCGTGCTTTGTAAGCA 26011

sars580 GACTACTACGGTGCCCTTTGTAAGCACAAGAAAGTGATGCAAACTTATGTACTCATTCGTTTCGGAAAGA 26056

sars581 TATGCTACTTCTGTTTTCGGAAGAACAGCTAGCTTAATAGTTAATAGCGTACTCTTTTCTGCTCTTC 26101

sars582 TAGCGTACTCTTTTCTGCTTTTGGTGATTTCTTGCTAGTACACATGCCATCCTTACTCGGCTTCGA 26146

sars583 ACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCGATTGTGTGGTACTGCTGCAATATGTTAACGTGAGTTTATGATAAA 26191

sars584 TATTGTTAACGTGAGTTTAGTAAACCAAGGTTTACGCTACTCGGTGTTAAAACTCGAAGCTCTCTC 26236

sars585 GCGTGTAAAAATCTGAAGCTCTCTGAAGGAGTTCTGATCTCTGGCTTAAACGAACCTAATATTATTA 26281

sars586 GGTCTAAACGMACTAATATTATTAATTATCTGTTTGGAACTTAACATTGCTTATCAATGGCAGACAAG 26326

sars587 ACATTGCTATCATGCGCAGACAACGGTACTATTAACGTTGAGGAGCTTAACACACTCGTGGAAACAAATGGA 26371

sars588 CTTAACCAACTCTGGAAACATGGAACTAGTAATAGGTTCCATTCTGACTGCGATTATGTTACTAC 26416

sars589 TTCTAGCTGGATTATGTTACTACAATTTGCTATTCTAATCGGAACAGGTTTGTGATCAATAAAGC 26461

sars590 AAGCAGTTTTTGTACATAATAAAGCTGTGTTTCCCTGCTGCTGTGGCCAGTAACACTGCTGTGTTTG 26506

sars591 TTGGCAGTAAACACTTGCTGTTTGTGCTTGCTGCTGTCTACAGAAATTAATGGGTGACTGGGGGATTG 26551

sars592 ATTAATGTTGGGTGACTGGCGGATTGCGATTGCAATGGCTGTATTGTAAGCTTGATGTGGCTTAGCTACT 26596

sars593 GTAGGCTGTATGTGGCTTAGCTACTGTTGCTTCTTCAGGCTGTGTCGTACCCGCTCAATGTGTGT 26641

sars594 TTTGCTGTACCCGCTCAATGTGGTCAATTCACCCAGAAACAACATCTCTCAATGTGCTCTCCGGG 26686

sars595 ATTCTTCTCAATGTGCTCTCCGGGGACAATTTGTGACAGAACGCTCATGGAAAGTGAACCTGTGATTG 26731

sars596 CTGACGAAGGTGAACCTGTGATTGGTGCTGTGATCATCTGCTGACTTGGAAATGGCGGACACTGCC 26776

sars597 CACTTGGGAATGGCGGACACTCCCTAGGGCGCTGTGACATAAGGAAGCTGCCAAAGAGATCACTGTGG 26821

sars598 GACCTGCCAAAGAGATCACTGTGGCTACATCAAGAACGCTTCTTATTACAATTAGGAGCGTCCGACG 26866

sars599 TATTACAATTAGGAAGGTGCGAGGTGTAGGCAGTGAATCAGGTTTGTGCTCATACAACCGCTAACGTA 26911

sars600 TTTGCTGCATACAACGCTACCGTATTGGAACATAAATTAATACAGAACCGCGGTAGCAAGACACA 26956

sars601 ACAGACCAACCGGCTAGCAACGCAATATTGCTTTGCTAGTACAGTAAGTGAACAGATGTTTCACTCT 27001

sars602 TAAGTGCACACAGATGTTTCACTCTGTGACTTCCAGGTTACAATAGCAGAGATATTGATTATCATTAATG 27046

sars603 AGCAGAGATAATTGATTAACAATTAGGAACTTTCAGGATTCCTATTGGAATCTTGACGTTATAATAAGT 27091

sars604 TTGGAATCTGACGTTATAATAAGTTCAATAGTGAAGCAATTAATTAAGCTCTCACTAAGAGAATTAAT 27136

sars605 TAAAGCTCTAATAGAAGAAATATTGGGAGTTAGATGATGAAGAACCTATGGAGTTAGATTATCCATAA 27181

sars606 ACGTATGAGGATTAGATTATCCATAAAGCAACATGAATAATTCTCTTCTGACATGATTGATTATTTAC 27226

sars607 TCTTCTGACATGATTGTTATTAATCATCTTGGAGCTATATCACTATCAGAGTGTTGTTAGAGTTACGAC 27271

sars608 ATCAGGAGTGTGTTAGAGGTACGACTGACTACTAAAGAACCTTGGCCATCAGGAACATACGAGGGCAA 27316

sars609 GCGCATCAGGAACATACGAGGGCAATTAACCAATTCACCGCTTGTCTGACAAATAATTTGCACTAACTTG 27361

sars610 CTGACAATAAATTTGCACTAACTTGCACTAGCACACACTTTGCTTTTGTGTGCTGACGGTACTCGACA 27406

sars611 TTGCTTGTGCTGACGGTACTCGACATACTTACAGCTGGGTGCAAGTCAAGTTTACCAAACTTTTTCAT 27451

sars612 GATCAGTTTACCAAACTTTTTCATCAGACAAGAGGAGGTTCAACAGAGCTCTACTCGCCACTTTTCT 27496

sars613 AAGAGCTCTACTGGCACTTTTCTCAATGTTGCTGCTCTAGTATTTTAACTTTGCTTCAACATTAA 27541

sars614 TTTTAATCTTTGCTTACCATTAAAGAAAGACAGAAATGAATGAGTCACTTTAATGACTTCTATTG 27586

sars615 GCTCACTTTAATGACTTCTATTGTCGTTTGTAGCTTTCTGCTATTCCTTGTTTAAATAAGCTTATT 27631

sars616 ATTGCTGTTTAAATAGCTATTATATATTGTTTCTACTCGAAATCCAGGATCTAGAGAACCTTGT 27676

sars617 AATCCAGGATCTAGAAAGCTTGTACCAAGCTTAACAGCAATGAAGCTTCTCATGTTTGTGACTGT 27721

sars618	GAAACTTCTCATTTGTTTGGCTTGTATTTCTCTATGCAGTTGCATATGCAGTGTAGTACAGCGCTGTGCA	27766
sars619	ATGCATCTGTAGTACAGCGCTGTGCATCTAATAAACCTCATGTGCTTGAAGATCCTTGTGAAGTACAACAC	27811
sars620	TGAAGATCCTTGTAAAGTACAACACTAGGGGTAACTTATAGCACTGCTGGCTTGTGCTTAGGAAA	27856
sars621	CTGCTTGCTTTGTGCTCTAGGAAGGTTTACCTTTTCATAGATGGACACTATGGTTCAAACTAGTAC	27901
sars622	GGCACACTATGGTTCAAACATGCACACCTAATGTTACTATCACTGTCAAGATCCAGTGGTGGTGGCT	27946
sars623	GTCAGATCCAGCTGGTGGTGGCTTATAGCTAGGTGTGGTACCTTCA TGAAGGTCAACAACTGCTGTC	27991
sars624	CCAAACAGAGGTCAACAACTGCTGCTTATAGAGAGTACTTGTGTTTAAATAAAGCAACAAATTAATA	28036
sars625	TTTTAAATAAAGCAAAATTAATATGTCTGATAATGGACCCCAATCAACCAAGTAGTGCCGCCGCA	28081
sars626	TCAAAACCAAGTAGTGCCGCCGCTATTACATTTGGTGGACCCACAGATTCAACTGACAAATAACGAAATG	28126
sars627	GATTCACCTACAATAACAGAAATGGAGGACGCATGGGGCAAGGCCAAACAGCGCGAAGCCCAAGGTT	28171
sars628	CCAAACAGCGCGCAACCCAGGTTTACCCAAATAACTGCGTCTTGGTTCACAGCTCTCACTACGATG	28216
sars629	TGGTTCACAGCTCTCACTACGATGGCAAGGAGGAAGTATAGATCCCTCGAGGCCAGGGCGTTCCAATCA	28261
sars630	CCTGCGAGCCAGGGCGTTCACATCAACACCAATAGTGGTCCAGATGACCAATTTGCTACTACCGAAGAG	28306
sars631	GACCAATTTGCTACTACGAGAGCTACCGGACGAGTTGGTGGTGGACGGGCAAAATGAAGAGCTCA	28351
sars632	GGTGCAGGCAAAATGAAGAGCTACGCCGACAGTGGTACTTCTATTACTAGGAAGTGGCCAGAGGCTT	28396
sars633	TAGCTAGGAAGTGGCCAGAGCTTCACTTCCCTACGGGCTAACAAGANGGCAATGATGGTGTGCA	28441
sars634	AAAGAGGCAATGATGGTGTGCACTGAGGAGGCCCTTGAATACACCCAAAGACCAATTTGGCACCCGCA	28486
sars635	CCCAAGACCAATTTGGCAACCCGCAATCTTAATAAATGCTGCCACCGTCTCAACATCTCTCAAGGAA	28531
sars636	ACCGTCTCAACCTTCTCAAGGAACACATTTGCCAAAGGCTTCTACGACAGGGAAGCAAGGCGGCA	28576
sars637	TACGACAGGGAAGCAAGGCGGCACTAAGGCTCTTCTCGCTCTATCAGTAGTCCGGGTAAATTCAA	28621
sars638	TCACTACAGTAGTGGGTAAATTTCAAGAAATTTCAACTCTGACAGCAGTAGGGGAAATTTCTCTCTCGAA	28666
sars639	AGTAGGGGAAATCTCTGCTGCAATGGCTAGCGGAGGTGGTGAACCTGCCCTCGCGCTATTTGCTGCTAG	28711
sars640	ACTGCGCTGGCGCTATTGCTGTAGACAGATTGAACCGACTTGAAGCAAGTTTCTGGTAAAGGCCAAC	28756
sars641	AGCAAGATTTCTGGTAAAGGCCAACACACAAAGGCCAACTGTCACTAAGAAATCTGCTGTAGGCAAT	28801
sars642	ACTAAGAAATCTGCTGTGAGGCACTTAAAGAGCGTGGCCAAAACGGTACTGCCACAAACAGTACAAG	28846
sars643	CGTACTGCAACAAACAGTACAAAGTCACTCAAGCAATTTGGGAGCGTGGTCCAGCAAAACCCAGGAA	28891
sars644	CGTGGTCCAGCAAAACCCAGGAAATTTGGGGACCAAGACCTAATCAGACAAAGGAAGTATTACAAC	28936
sars645	ATCAGCAAGGAAGTATTACAACCAATTTGGGCGCAATTTGCACAAATTTGCTCCAGTGGCTCTGCAATCT	28981
sars646	TTTGTCCAGATGCTCTGCTGCTATTCTTGGAAATGTACGCCATTTGGCATGGAAGTACACCTTTGGGAACAT	29026
sars647	ATGGAAGTCAACCTTTGGGAACATGCTGCTATTATCATGGAGCCATTAATTTGATGACAAAGTCCAC	29071
sars648	ATTAATTTGGATGACAAAGATCCACAAATTCAAAGACAAAGTCACTAGCTGAACAGACATTTGACGCAT	29116
sars649	CTGCTGAACAGCATTGAGGCATACAAACATTTCCACCAACAGAGGCTTAAAGGACAAAAGAGAAA	29161
sars650	GAGCTTAAAGGACAAAAGAAAAGAACTGATGAGCTACGCTTTGGCGCAGAGACAAAAGACGAC	29206
sars651	TTGCGGACAGACAAAAGAACGACGCCACTGTGACTTCTTCTGGGCGTACATGGATGATTTTCTCCA	29251
sars652	GCGGCTGACATGGATTTTCTCCAGACAACTTCAAAATTCATGAGTGGAGCTTCTGCTGATTCACTC	29296
sars653	AGTGGAGCTTCTGCTGATTCACTACGACATAAACACTCATGATGACACCAAGGCAGATGGGCTATGT	29341
sars654	ACCACACAGGCAGTGGGCTATGTAAAGGTTTTGCAATTCGGTTAGCATACATAGTCTACTCTTGTG	29386
sars655	TATGACATACATAGTCTACTCTTGTGCAAGATGAATTCGTGTAACAAACGACCAAGTAGGTTTAAGTAA	29431
sars656	AAACAGCACAGTAGGTTAGTTAACTTTAATCTCACATAGCACTTTAATCAATGTGTAACTTAGGG	29476
sars657	CTTTAATCAATGTGTAACTTAGGAGGACTTGAAGAGGCCACCACTTTTCATGAGGCCACCGCGAGT	29521
sars658	CATTTTTCATGAGGCCACCGCGAGTACGATGAGGGTACAGTGAATATGCTAGGGAGGCTGCCATAT	29566
sars659	TATGCTAGGAGAGCTGCCCTATATGGAAGAGCCCTAATGTGTAAATTAATTTTAGTGTGCTATCC	29611
sars660	AATTAATTTTAGTAGTGCTATCCCATGTGATTTTAATAGCTTCTTAGGAGAAATGACAAAAA	29656

另外，选取四条烟草花叶病毒特异性探针作为阴性对照探针，序列来源于烟草花叶病毒

基因组 (GenBank 序列号: NC_001367)。如表 2 所示:

表 2 烟草花叶病毒特异性探针序列

序号	序列	起始位点
tsv1	ATATTCTTAAGTATGTGTGCAAACTTACTTCCGGCTCTAATAGAGAGGTTTACATGAAGGATTTTT	895
tsv2	TCTGCTGGGTGTGGAATCTGTCAGATCCCAAGATACAGCTGCTATTGAACCTGAAAACCGTCAAA	2220
tsv3	CTTCTTAAGGAGTTAAGCTTATTGATAGTGGATACGCTCTGTTAGCGGTTTGGTGTGTCACGGGGAGT	5065
tsv4	TGACAAATTGCAGAGGAGTGTGAGCGTGTGCTGCTGGTGACAAAGGATGGAAGAGCGCAGAGGCCACT	5145

我们还选取了猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒特异性探针序列共 12 条探针, 序列见表 3:

表 3 猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒特异性探针序列

TGEV1	CTCTTATGTTGGTCTTCAGTTTGTATTATTCAGATGCCATGTGAACATCCGCTATTGATGGATTA
TGEV1_rc	TAAATCATCAATAGCAGGATGTTCAACATGGCATCTGCAATAATACAACTGAAGCACCACCAATAGAG
TGEV2	AGGTTGTTATAACACTTGACAAACAGATCTTAATGGCAATTTCTAGATTTCGGGATTTCTGTGAAGACT
TGEV2_rc	AGTCTTACGAAATCGCGAAATCGTAGAAATTCGATTAAGATCTGGTTGTCAAGTGTATAACACCT
TGEV3	GATAATGGTTGTTGATGGGATGGGACTATCCTAAGTGTGACGGTCTTAACCTAATATGATAGAATGG
TGEV3_rc	CCATTCTAATCATATTAGGTAAGCAACGGTCACTTAGGATAGCCATCCATCCATCAAAACCAATATTATC
AIBV1	AACACTAGAAATGCTCTGTAGTTATGGAAACCAACAGTTTATGGCGGTTGGGCAACATGTTGAGAA
AIBV1_rc	TTCTCAACATGTTGCCAACCGGCATAAAACCTTGGTTGCTCAATTAACACAGAACGATTTCTAGTGT
AIBV2	TTATGGGTTGGGATATCCTAAGTGTGATAGCAATGCTAATTTGTTGGGTATGACGACATCCTAGT
AIBV2_rc	ACTAAGGATGCTGCTATAGCAACAAATTAGCATTTGCTCTATCACACTAGGATAATCCCAACCCATAA
AIBV3	TATTTATGTTAAACCTGGTGGCACTAGCAGTGGTGTGCTACTACTGCTTATGCAACACGTTTATTAAC
AIBV3_rc	GTTAAAAACACTGTTTGCAATAGCAGTAGTAGCATCACCACGCTAGTGCCACAGGTTTAACATAAAATA

我们还设计了针对香港公布的 CUHK-W1-S 的 SARS 全序列的特异性探针序列共 3 条探针, 序列见表 4:

表 4 CUHK-W1-S 的 SARS 的特异性探针序列

CUHK-W1-S-210	TACTATTAAATCATAGCTTTGGCAACCCGTCTACCTTTTAAGGATGGTA TTTATTTTGGTCCACAGAG
CUHK-W1-S-710	CTTTTCACTGCTCAGACATTTTGGGCAAGTGCAGCTGAGCTATTCTT GTGGCTATTAAAGCCAAAC
CUHK-W1-S-1710	ATTAGACATTTCACTTGTCTCTTTTGGGGGTGTAGTGTAAATACACCTG GAACAAATGCTCTCATCTGAA

当然不局限于 CUHK-W1-S 的 SARS 还包括了根据其它最新公布的 SARS 序列所设计的特异性探针。

同时选取来自人基因组序列的 40-100 条寡核苷酸单个或多个组成分布排列作为芯片扫描的对照。

SARS 冠状病毒 TOR2 株 660 个探针, 烟草花叶病毒 4 个探针, 猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒 12 条探针, CUHK-W1-S 的 SARS 全序列探针序列共 3 条探针, 最后, 上述总共 679 个探针。

实施例 2 芯片点制

将上述 679 个探针共计为 680 个探针进行矩阵设计。按 679 条探针进行合成, 合成产物溶于点样缓冲液 (3×SSC), 终浓度为 800ng/ul。通过基因芯片点样仪将探针溶液点于醛基修饰的玻璃片基上, 随后在湿度为 60% 的环境中进行水合 30min, 以使探针的氨基与片基的醛基发生连接反应, 从而使探针固定于片基之上。

点制规则为每条探针重复三个点, 分为 5 个矩阵, 每个矩阵 135 条探针, 每个矩阵包括

38个阳性坐标点,形成25列×14行的点阵。如说明书附图中图1所示,图1为SARS冠状病毒全基因组芯片点样示意图,每组三联点为一条探针。图中的A所示的灰色点为阳性坐标点,B所示的黑色三联点为检测探针。

实施例3 样本处理与标记

对于可能含有SARS冠状病毒的待测样本,通过Trizol试剂应用常规方法提取总体RNA,用5'端端有特异性末端的九碱基随机引物(GTTTCCAGTCACGATCNNNNNNNN)进行随机反转录,然后利用特异性末端(GTTTCCAGTCACGATC)进行特异性扩增,在扩增的过程中掺入Cy3或Cy5标记的dCTP以便扩增产物带有荧光信号。

操作流程如下:

RT: (20ul 体系),

1ul 随机引物 (GTTTCCAGTCACGATCNNNNNNNN, 100pmol/ul)

2ul RNA 模板 (1-2ug 总体 RNA)

1ul dNTP (10mM)

8ul DEPC-ddH₂O

混匀, 70℃5min, 迅速冰浴, 快速离心

加入 4ul 5*第一链合成 Buffer

2ul 1.0M DTT

1ul RNA 酶抑制剂 (40U/ul)

25℃5min, 加入 1ul 反转录酶, 混匀, 25℃10min, 42℃1h, 70℃15min 终止。

PCR: A: (20ul 体系)

RT 产物 1ul

10*PCR Buffer 2ul

随机引物 1ul (GTTTCCAGTCACGATCNNNNNNNN, 100pmol/ul)

dNTP (10mM) 0.6ul

ddH₂O 14.4ul

Taq (5U/ul) 1ul

95 5min—94 1min—30 5min—72 3min—5cycles—72 5min

B: (50ul 体系)

PCR-A 产物 5ul

10*PCR Buffer 5ul

特异引物 2ul (GTTTCCAGTCACGATC, 100pmol/ul)

dNTP (10mM) 1ul

Cy3/5-dCTP (1mM) 1ul

ddH₂O 34ul

Taq (5U/ul) 2ul

95 5min—94 50s—40 1min—50 1min—72 1min—30cycles—72 5min

实施例4 芯片杂交:

将芯片进行预处理,即分别用0.5%SDS和去离子水漂洗芯片,晾干备用。

将标记好的50ul待测样品扩增产物进行冷冻真空干燥,用1×杂交缓冲液20ul重新溶解,95℃变性5min,迅速冰浴,取20ul杂交液滴加于芯片表面,并以盖玻片覆盖,37℃温浴1小时后,分别用0.5%SDS和去离子水漂洗芯片5min,晾干后通过基因芯片扫描仪扫描芯片,并利用分析软件计算各条探针的信号值与分析阴阳性结果。

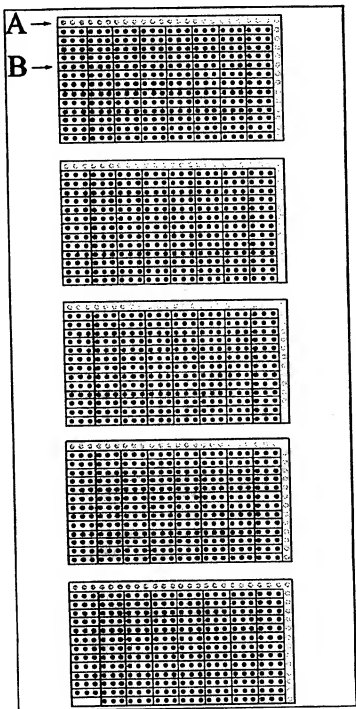
实施例5 结果分析:

经过采集 SARS 冠状病毒的标准毒株（临床病人的血清及呼吸道分泌物样品）以及其他与 SARS 冠状病毒具有同源性的冠状病毒，包括感染性支气管炎病毒（Infectious bronchitis virus）、牛冠状病毒（Bovine coronavirus）等（病毒标准品），采用正常人血清及呼吸道分泌物样品作为阴性实验对象，根据以上技术路线进行多次实验，得到实验结果为：

- 1、杂交结果中阴性对照探针均呈现阴性信号；
- 2、标准毒株杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 83%-92%；
- 3、其他与 SARS 冠状病毒相关的冠状病毒杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 37%-58%；
- 4、阴性实验对象杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 1%-16%。

通过以上实验得到杂交实验结果判定标准，即在阴性探针反应呈阴性的前提下，80%以上检测探针为阳性结果时可判定待测样品带有 SARS 病毒；30%-80%检测探针为阳性结果时可判定待测样品带有与 SARS 病毒相关的病毒；30%以下检测探针为阳性结果时可判定待测样品不带有与 SARS 病毒相关的病毒。

图 1



BEST AVAILABLE COPY